

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI
EKSTRAK ETANOL KULIT KAYU AKWAY (*Drymis piperita*
Hook. f.) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis* DAN
*Salmonella thypi***

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**MARIA ROZALIA
K 100 090 090**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI EKSTRAK
ETANOL KULIT KAYU AKWAY (*Drymis piperita* Hook f.)
TERHADAP *Staphylococcus epidermidis* DAN *Salmonella thypi***

Oleh :
MARIA ROZALIA
K 100 090 090

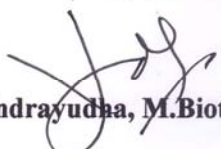
Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari :
Tanggal :

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,


Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

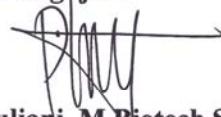
Penguji I


Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Pembimbing Utama


Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Penguji II


Ratna Yuliani, M.Biotech.St

Pembimbing Pendamping


Rima Munawaroh, M.Sc., Apt

Mahasiswa


Maria Rozalia

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI EKSTRAK ETANOL KULIT KAYU
AKWAY (*Drymis piperita* Hook. F.) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis* DAN
*Salmonella thypi***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND BIOAUTOGRAPHY OF ETHANOLIC EXTRACT OF
AKWAY BARK (*Drymis piperita* Hook. F.) AGAINST BACTERIA *Staphylococcus*
epidermidis AND *Salmonella thypi***

Maria Rozalia, Ika Trisharyanti D.K.* , Rima Munawaroh
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta,
Jl A. Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102
*Email: meeri_cute@yahoo.com

ABSTRAK

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang utama di Indonesia. Kulit kayu akway (*Drymis piperita* Hook. f.) adalah salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol kulit kayu akway serta golongan senyawa kimianya yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella thypi*.

Kulit kayu akway diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Ekstrak diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi padat. Kandungan senyawa kimia dari ekstrak etanol kulit kayu akway diketahui dari Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase gerak n-heksan : kloroform : metanol (11 : 3 : 6) v/v. Uji bioautografi untuk mengetahui golongan senyawa antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat (jernih).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit kayu akway mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella thypi* dengan KHM sebesar 2,5% dan 4,5% sedangkan KBM sebesar 3% dan 5%. Hasil uji bioautografi menunjukkan zona jernih di Rf 0,8 terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella thypi* yang merupakan senyawa fenol dan terpen.

Kata kunci : *Drymis piperita* Hook. f., antibakteri, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella thypi*, ekstrak etanol, bioautografi.

ABSTRACT

*Infectious diseases are one of the major health problems in Indonesia. Akway bark (*Drymis piperita* Hook. f.) is one of the plants that can be used as traditional medicine. The research was conducted to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal concentration (MBC) of the akway bark extract and their chemical compounds that have antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* and *Salmonella thypi*.*

Akway bark was extracted by maceration methode using ethanol 96%. Antibacterial activity of extracts was tested using solid dilution methode. Chemical contents of the ethanolic extract of the akway bark tested with Thin Layer Chromatography (TLC), hexane: chloroform: methanol (2.75: 0.75: 1.5) v / v used as the mobile phase. Bioautography by stick the TLC plate on the media that inoculated with bacterial suspension, antibacterial compounds indicated by inhibition zone.

The results showed that the ethanolic extract of the akway bark have antibacterial activity against Staphylococcus epidermidis and Salmonella thypi with MIC 2.5% and 4.5%, while MBC 3% and 5%. Bioautography showed clear zone at Rf 0.8 against Staphylococcus epidermidis and Salmonella thypi. TLC results showed the contents of chemical compounds are phenol and terpene. The compound has a good antibacterial activity against Staphylococcus epidermidis and Salmonella thypi are phenol and terpene.

Keywords: Drymis piperita Hook. F., antibacterial, Staphylococcus epidermidis, Salmonella thypi, ekstrak etanol, bioautography.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang utama di Indonesia (Rostinawati, 2010) dan banyak ditemukan pada kehidupan sehari-hari (Waluyo, 2004), serta biasanya ditularkan secara langsung dari satu orang ke orang lain, misalnya melalui bersin dan batuk (Price & Wilson, 2005). Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme (bakteri, virus, parasit, dan jamur) yang masuk dan berkembang biak ke dalam tubuh manusia (Jawetz *et al.*, 2005). Contoh bakteri yang sering menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*.

Staphylococcus epidermidis merupakan flora normal pada kulit manusia, saluran pencernaan dan pernafasaan (Jawetz *et al.*, 2005). Berdasarkan data pasien yang berobat di rumah sakit umum distrik tropikal Inggris menunjukkan 10% pasien rawat inap yang menderita infeksi saluran kemih disebabkan *Staphylococcus epidermidis* (Gould & Brooker, 2003). Hasil penelitian di RSUI Kustati Surakarta menunjukkan 13 isolat *Staphylococcus epidermidis* yang berasal dari pus pasien memiliki sensitivitas tertinggi terhadap antibiotik imipenem yaitu sebesar 92,31%, siprofloksasin sebesar 61,54%, gentamisin sebesar 53,85%, sefotaksim sebesar 38,46% (Susilowati, 2007).

Salmonella typhi pada manusia dan hewan bersifat patogen yang dapat menyebabkan enteritis, infeksi sistemik, demam enterica atau demam tifoid (Jawetz, 2005), gastroenteritis dan keracunan makanan yang terkontaminasi (Radji, 2011). Di Indonesia diperkirakan sekitar 60.000 sampai 1.300.000 kasus infeksi salmonella dari 20.000 kasus yang menyebabkan kematian pertahun (Siswandono, *et al.*, 2005), memiliki resistensi terhadap antibiotik kloramfenikol, kotrimoksazol, tetrasiklin, dan ampisilin (Yenny & Herwana, 2007).

Indonesia memiliki sumber kekayaan alam yang melimpah khususnya tanaman obat, tetapi masih belum banyak dikembangkan. Salah satu tanaman obat yang perlu dikembangkan dan memiliki aktivitas antibakteri adalah akway. Tanaman akway merupakan tanaman asli papua yang digunakan sebagai obat tradisional, berdasar

pengalaman secara turun menurun setiap generasi (Pladio, *et al*, 2004) dengan mengeringkan kulit kayu untuk obat kuat, mengiris halus kulit kayu akway dan direbus untuk demam malaria, obat kudis, dan asma (Cepeda, *et al*, 2011).

Berdasarkan hasil uji fitokimia dari ekstrak etanol dan ekstrak air dari kulit kayu akway, terdeteksi adanya tanin, saponin dan alkaloid (Ismunandar, 2008). Hasil analisis spektrofotometri FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) ekstrak etanol 70% kulit kayu akway menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% mempunyai gugus fungsi O-H, C-O, C=C aromatik, dan C=O yang berasal dari senyawa tanin sebagai antibakteri (Ismunandar, 2008).

Ekstrak etanol 70% kulit kayu akway menghasilkan diameter zona hambat 17,620 mm untuk *Escherichia coli* dan 15,125 mm untuk *Staphylococcus aureus*, dengan nilai KHM sebesar 0,625% terhadap *Escherichia coli* dan 2,5% terhadap *Staphylococcus aureus* (Ismunandar, 2008), dan terhadap *Escherichia coli* ATCC 43894 dan *Escherichia coli* ATCC 10798 dengan *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* yaitu 1,05 % dan 1,26% (Capeda, *et al*, 2007).

Penelitian tersebut diketahui ekstrak etanol 70% kulit kayu akway mempunyai aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* (Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (Gram positif), sehingga dilanjutkan penelitian ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* yang termasuk dalam bakteri Gram positif dan Gram negatif. Penelitian ini diharapkan mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*, serta mengetahui senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* melalui uji bioautografi.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu vacuum *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath*, alat timbangan, oven (Memmert), autoklaf (My Life), inkubator (Memmert), vortex (Thermolyne Corporation), LAF (Astari Niagara), mikropipet (Socorex), ose, lampu bunsen, seperangkat alat KLT, lampu UV_{254 nm} dan UV_{366 nm}, seperangkat alat gelas (Pyrex).

Bahan

Kulit akway (*Drymis piperita* Hook. F.) yang diambil dari daerah kampung Ulong, Distrik Anggi, etanol 70% dan etanol 96%, *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, media *Mueller*

Hinton (MH) (Oxoid), *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid), *Manitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid), cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D, *Dimethylsulfoxide* (DMSO) (Oxoid), silika gel GF256, media *Mueller Hinton* (MH), NaCl 0,9%, CMC Na 0,5%, kloroform, metanol, heksan, pereaksi semprot : FeCl₃, sitroborat, anisaldehyd-asam sulfat, dan Dragendroff.

Jalannya penelitian

Determinasi tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk menetapkan kebenaran dari tanaman. Determinasi tanaman akway (*Drymis piperita* Hook. f.) dilakukan di Pusat Penelitian Keragaman Hayati Universitas Negeri Papua.

Uji pendahuluan pelarut

Uji pendahuluan pelarut dilakukan untuk menentukan pelarut yang paling cocok menyari zat aktif yang ada dikulit kayu akway dengan mempertimbangkan pada hasil rendemen dan diameter zona hambat. Pelarut yang dibandingkan adalah etanol 70% dan etanol 96%. Sebanyak 10 gram serbuk kulit akway masing-masing dimaserasi dengan etanol 70% dan etanol 96% dengan volume etanol 75 ml selama 3x24 jam. Hasil maserasi disaring dan ampas diperas dengan kain flanel. Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dengan *evaporator*, setelah itu diuapkan di *waterbath* sampai kental.

Ekstrak etanol 70% dan 96% diujikan pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 10% (100 mg ekstrak ditambah CMC Na 0,5% hingga 1 mL). Aktivitas antibakteri diuji dengan menggunakan metode difusi, sebanyak 200 µL suspensi bakteri 10⁸ CFU/ml, diratakan dengan *spreader glass* pada permukaan *plate* MH agar, didiamkan selama 5 menit agar permukaan media kering. Pada media dibuat 3 sumuran, untuk ekstrak etanol 70%, dan CMC Na 0,5% sebagai kontrol. Sebanyak 10 µl ekstrak etanol 70%, ekstrak etanol 96% serta CMC Na 0,5% masing-masing dimasukkan kedalam sumuran. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati diameter zona hambatnya.

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak kulit kayu akway dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 1000 gram kulit kayu akway direndam dengan 7500 ml etanol 96% kedalam wadah panci *stainless steel*, kemudian didiamkan selama 3x24 jam dengan pengadukan sesekali. Kemudian simplisia diperas dan disaring dengan corong *Buchner* dan dikentalkan dengan

menggunakan *vacuum rotary evaporator* (50°), dan dipanaskan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang untuk menghitung rendemen.

Uji Aktivitas Antibakteri

Sterilisasi alat dan bahan, alat-alat gelas berupa cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, pipet volume, dan labu takar dicuci bersih dan dibungkus kertas, dimasukkan ke dalam oven pada pemanasan 175°C selama 90-120 menit (pemanasan kering). Alat dan bahan yang tidak tahan pemanasan kering seperti media, pipet tetes, *yellow tips*, dan *blue tips* dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit (pemanasan basah). Alat yang telah disterilkan dapat langsung dipakai atau disimpan dalam keadaan tertutup rapat, sedangkan untuk media yang tidak segera digunakan harus disimpan pada suhu 4°C (di dalam almari es) (Pratiwi, 2008).

Media yang digunakan telah tersedia dalam kemasan, sehingga dalam pembuatannya hanya dengan cara melarutkan dalam aquades sesuai dengan instruksi yang terdapat pada masing-masing kemasan. Banyaknya media yang ditimbang untuk tiap literanya adalah sebagai berikut : media MH 64 gram, media BHI 37 gram. Jumlah media yang ditimbang disesuaikan dengan volume yang dibutuhkan. Pemiakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* masing-masing digoreskan pada media MH dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah tumbuh koloni bakteri, disimpan pada suhu 4°C.

Pengecatan Gram, koloni bakteri diambil dari media agar, kemudian diratakan pada gelas obyek yang sebelumnya telah dipanaskan dengan lampu spiritus. Preparat digenangi dengan cat gram A selama 1 menit, sisa cat dibuang dan dibilas dengan air. Selanjutnya dituangi dengan cat gram B selama 1 menit, sisa cat dibuang dan dibilas dengan air. Preparat lalu digenangi dengan cat gram C selama 5-10 detik atau sampai cat gram B benar-benar luntur, kemudian dibilas dengan air. Preparat digenangi dengan cat gram D selama 30 detik, kemudian dibilas dengan air. Selanjutnya preparat dikeringkan, dan diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* masing-masing diambil dari kultur, kemudian disuspensikan ke dalam media BHI 1 mL dan di *shaker incubator* pada suhu 37⁰ C dengan kecepatan 200 rpm selama 2 jam. Selanjutnya suspensi bakteri tersebut ditambah dengan larutan salin steril dan kekeruhannya disetarakan dengan standart konsentrasi kuman 10⁸ CFU/ml (Schwalble, 2007).

Uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi padat, dilarutkan 1 gram ekstrak etanol kulit kayu akway kedalam CMC Na 0,5 %. Sebanyak 3 ml media Mueller Hinton (MH) cair yang telah disterilkan ditambahkan larutan ekstrak etanol kulit kayu akway dengan seri konsentrasi 6% b/v, 5,5% b/v, 5% b/v, 4,5% b/v, 4% b/v dan 3,5% b/v untuk *Salmonella thypi*, sedangkan 3,5% b/v, 3% b/v, 2,5% b/v, 2% b/v dan 1,5% b/v untuk *Staphylococcus epidermidis* dengan volume total masing-masing 4 ml.

Dikocok hingga homogen, dipadatkan dalam posisi miring. Kemudian jika media MH yang telah dicampur ekstrak telah padat, dioleskan suspensi bakteri yang dibuat setara dengan 10^8 CFU/ml sebanyak 50 µl dan diratakan dengan ose steril, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° selama 18-24 jam. Dari inkubasi diperoleh konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang disebut KHM, kemudian dilakukan pengujian dengan cara menggoreskan semua hasil uji yang jernih ke dalam media MH yang dipadatkan dalam posisi miring, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yang menghasilkan nilai KBM (Schwalble, 2007).

Kontrol yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* terdiri dari:

- Kontrol media : media MH
- Kontrol bakteri : media MH + suspensi bakteri
- Kontrol *suspending agent* : CMC Na 0,5% + media MH + bakteri

Uji Kandungan Senyawa dengan kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak etanol kulit kayu akway dilarutkan dengan pelarut yang sesuai yaitu kloroform : metanol (9:1). Sebanyak 2 µl larutan sampel 10% ditotolkan pada fase diam yaitu silica gel GF₂₅₄, dan dielusi dengan fase gerak heksan : kloroform : metanol = 11:3:6 (v/v). Plat KLT dikeringkan dan diangin-anginkan, kemudian pemisahan diamati dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm, serta dengan pereaksi semprot untuk mengidentifikasi senyawa yang akan diuji. Uji senyawa alkaloid dideteksi sitroborat, senyawa terpen dideteksi anisaldehyd-asam sulfat, senyawa tanin dideteksi FeCl₃ (Wagner & Bladt, 1996).

Uji Bioautografi

Untuk mendeteksi senyawa aktif yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri digunakan metode bioautografi. Sebanyak 2 µl ditotolkan pada plat KLT, dielusi dalam bejana dengan fase gerak heksan : kloroform: metanol = 11:3:6 v/v. Kemudian disiapkan 1 plat sebagai kontrol negatif, di mana plat KLT dielusi tanpa penotolan sampel. Plat KLT yang telah dielusi di tempelkan pada media MH yang telah diinokulasi dengan 200 µl bakteri. Didiamkan selama 20 menit, diberi tanda pada bagian bawahnya, lalu plat

diangkat. Diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Diamati, bila ada bercak pada kromatogram tersebut yang memiliki aktivitas antibakteri maka dengan difusi akan terbentuk zona jernih yang merupakan zona hambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri

Uji pendahuluan aktivitas ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* dilakukan dengan metode difusi. Tujuan dari uji pendahuluan untuk menentukan aktivitas antibakteri yang paling baik antara ekstrak etanol 70% dan 96% dari rendemen dan zona hambatnya.

Rendemen ekstrak etanol 96% diperoleh 22,31% (berat awal simplisia 29,94 g, berat ekstrak 6,68 g) sedangkan rendemen ekstrak etanol 70 % diperoleh 5,93% (berat awal simplisia 30,02 g, berat ekstrak 1,78 g). Rendemen ekstrak etanol 96% lebih banyak daripada ekstrak etanol 70% (Tabel 1).

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*, (n = 4).

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>			<i>Salmonella typhi</i>		
	Etanol 96%	Etanol 70%	CMC Na 0,5%	Etanol 96%	Etanol 70%	CMC Na 0,5%
Diameter Zona Hambat (mm) (x ± SD)	29,5±13,48	16,38±10,90	-	22,75±5,78	12,88±3,28	-

Hasil uji pendahuluan orientasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kayu akway terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* didapatkan diameter zona hambat ekstrak etanol 96% lebih besar daripada diameter zona hambat ekstrak etanol 70%. Jadi yang lebih berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi* adalah ekstrak etanol 96%.

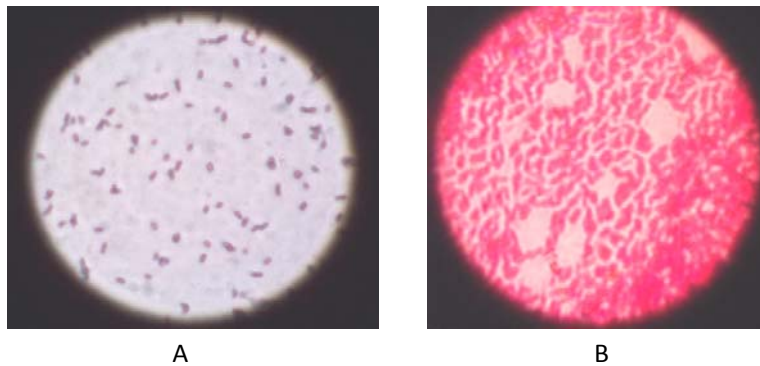
Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Keuntungan dari metode ini yaitu pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapatkan. Maserat yang diperoleh diuapkan kandungannya dengan *vacuum rotary evaporator*. Selanjutnya dihilangkan sisa airnya dengan waterbath pada suhu <60°C untuk mencegah terurainya kandungan senyawa kimia pada ekstrak. Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 96% yang merupakan campuran hidroalkohol antara pelarut polar dan non polar, karena keduanya mudah bercampur dan memungkinkan kombinasi yang fleksibel untuk mengekstraksi bahan aktif (Ansel, 1989).

Proses maserasi dilakukan pada bejana yang tertutup dan terhindar dari cahaya agar senyawa-senyawa hasil maserasi tidak teroksidasi. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan serbuk simplisia, sehingga tetap terjaga derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel. Dari hasil maserasi diperoleh rendemen sebesar 16,19%.

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui golongan bakteri melalui pengecatan Gram, uji KIA; LIA; MIO untuk bakteri *Salmonella typhi*, dan uji MSA untuk *Staphylococcus epidermidis*. Berdasarkan hasil pengecatan Gram bakteri Gram negatif yang diamati dengan mikroskop berwarna merah karena zat warna karbol ungu kristal dilarutkan oleh alkohol dan keluar dari sel, ketika ditambahkan zat warna fukhsin bakteri mengikat cat tersebut. Sedangkan bakteri Gram positif berwarna ungu karena pada pengecatan Gram bakteri tersebut tahan terhadap alkohol sehingga tetap mengikat zat warna karbol ungu kristal dan tidak mengikat zat warna safranin menunjukkan Gram positif (Gambar 1) (Jawetz *et al.*, 2005). Berdasarkan hasil pengecatan Gram *Salmonella typhi* merupakan bakteri Gram negatif, berwarna merah dan berbentuk batang. Sedangkan *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri Gram positif, berwarna ungu dan berbentuk bulat.



Gambar 1. Hasil Pengecatan Gram

Keterangan:

- (A) *Staphylococcus epidermidis*
- (B) *Salmonella thypi*

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi secara biokimia terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *S. epidermidis*. Hasil pengujian *S. epidermidis* pada media MSA tidak terjadi perubahan warna merah menjadi kuning sehingga tidak mampu memfermentasi manitol dalam keadaan anaerob (Jawetz *et al.*, 2005).

Salmonella thypi mampu memfermentasi laktosa dan glukosa, ditandai dengan perubahan warna media KIA menjadi kuning. Pada media LIA warna media tetap

berwarna ungu tapi di daerah sekitar tusukan terbentuk warna hitam, hal ini disebabkan karena bakteri mampu mendekarboksilasi lisin yang reaksinya bersifat basa dan mampu membentuk gas H₂S dari sodium tiosulfat. Pada media MIO warna media berubah menjadi kuning, hal ini disebabkan karena *Salmonella thypi* tidak mampu mendekarboksilasi ornitin (Munawaroh, *et al.*, 2012).

Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kayu akway adalah metode dilusi padat. Parameter yang diamati KHM dan KBM. Konsentrasi ekstrak etanol kulit batang akway yang diuji adalah 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5% untuk *Staphylococcus epidermidis*.

Tabel 2. KHM dan KBM *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella thypi* ekstrak kulit kayu akway (n=3)

Bakteri	KHM (%)	KBM (%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,5%	3%
<i>Salmonella thypi</i>	4,5%	5%

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kayu akway diperoleh nilai KHM 2,5% b/v yang mampu menghambat *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan nilai KBMnya 3% (Gambar 5). Hasil uji pada *Salmonella thypi* diperoleh nilai KHM 4,5% b/v dan nilai KBM 5% (Gambar 6). Jika dibandingkan dengan penelitian Ismunandar (2008) dengan metode difusi ekstrak 70% kulit kayu akway diperoleh nilai KHM 0,625% yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat 17,620 mm dan konsentrasi 2,5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 15,125 mm. Perbedaan ini kemungkinan didasari oleh perbedaan metode, penyari ekstrak dan jenis bakteri.

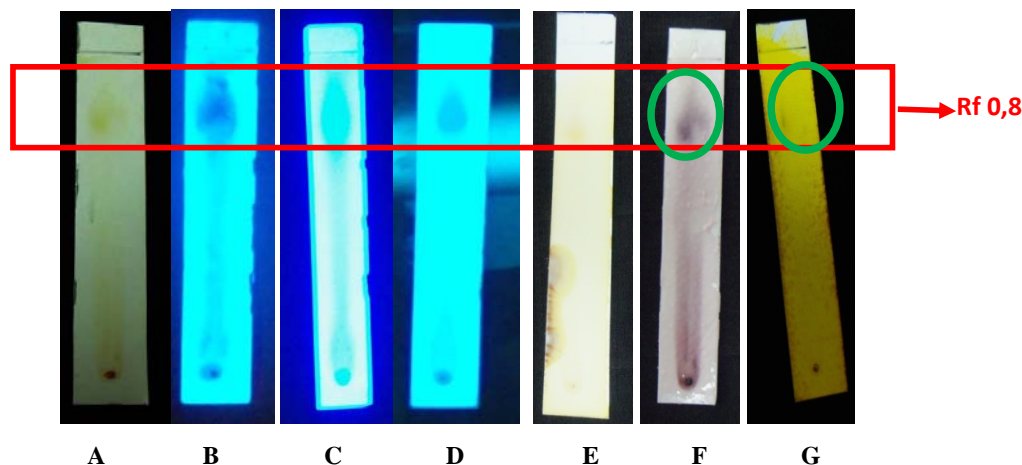
Ekstrak dikatakan aktif atau poten sebagai antibakteri apabila menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi ≤ 1000 ug/mL (<0,1% b/v) (Mitscher *et al.*, 1972 *cit* Astuti *et al.*, 2002). Hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu akway lebih poten terhadap *Staphylococcus epidermidis* (Gram positif) karena bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang lebih permeabel, interaksi antara antibakteri dengan bakteri akan semakin baik (Adu *et al.*, 2011).

Analisis Kualitatif Ekstrak Etanol Kulit Kayu Akway

Analisis kualitatif ekstrak etanol kulit kayu akway menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit kayu akway. Uji KLT dilakukan terhadap kandungan yang terdapat di dalam ekstrak etanol kulit kayu akway yaitu saponin, flavonoid, tannin, polifenol

(Ismunandar, 2008). Deteksi sinar UV 254, UV 366, dan pereaksi-pereaksi semprot yang spesifik digunakan untuk penampak bercak.

Hasil deteksi pereaksi FeCl_3 diamati dengan sinar tampak terlihat warna biru pada Rf 0,8 menunjukkan adanya fenol. Pada Rf yang sama, deteksi dengan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat yang diamati dengan UV 366 mengindikasikan adanya senyawa terpen ditunjukkan dengan adanya warna merah. Hasil uji untuk saponin tidak terdapat busa yang stabil berarti tidak terdapat senyawa saponin.



Gambar 7. Hasil uji KLT ekstrak etanol kulit kayu akway (*Drymis piperita* Hook. f.) dengan fase gerak n-heksan : kloroform dan fase diam silika gel 254.

Keterangan :

- A : Sinar tampak
- B : UV 254
- C : UV 366
- D : Sitroborat (UV 366)
- E : Dragendroff (sinar tampak)
- F : Anisaldehyd-asam sulfat pekat (sinar tampak)
- G : FeCl_3 (sinar tampak)

Tabel 4. Hasil Uji KLT Ekstrak Etanol Kulit Kayu akway pada bercak dengan Rf 0,8

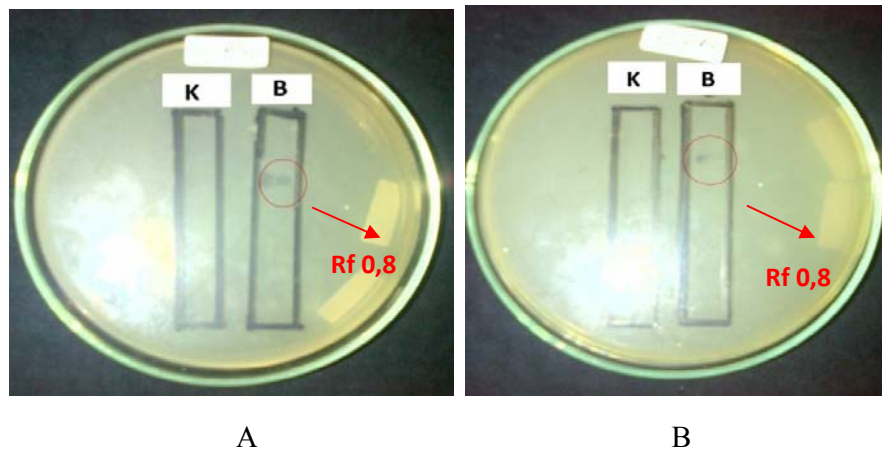
Deteksi	Hasil	Keterangan
Sitroborat (UV 366)	Bercak tidak terlihat kuning	Tidak terdeteksi adanya flavonoid
Dragendroff (sinar tampak)	Bercak tidak terlihat kuning atau orange	Tidak terdeteksi adanya alkaloid
Anisaldehyd-asam sulfat pekat (sinar tampak)	Terlihat bercak biru	Terdeteksi adanya terpen
FeCl_3 (sinar tampak)	Terlihat bercak biru tua	Terdeteksi adanya fenol

Berdasarkan hasil analisis KLT, bercak pada Rf 0,8 adalah senyawa fenol dan terpen. Mekanisme terpen yaitu merusak membran yang mengganggu komponen lipofilik dinding sel bakteri (Cowan, 1999). Bercak pada Rf 0,8 merupakan senyawa fenol.

Mekanisme fenol sebagai antibakteri dengan merusak enzim-enzim pada bakteri dan merusak dinding sel bakteri (Mhaske *et al.*, 2012).

Uji bioautografi

Berdasarkan hasil optimasi fase gerak didapatkan kombinasi fase gerak berupa heksan : kloroform : metanol (2,75:0,75:1,5) v/v, dari hasil elusi diperoleh bercak dengan nilai Rf 0,8. Bercak-bercak yang memiliki aktivitas antibakteri dengan adanya difusi akan terbentuk zona hambat. Kontrol plat KLT berfungsi untuk mengetahui apakah fase gerak yang dipakai mempunyai aktivitas dalam menghambat bakteri dalam media MH atau tidak.



Gambar 7. Hasil bioautografi terhadap *Staphylococcus saprophyticus* (A) dan *Shigella sonnei* (B). Terdapat hambatan pertumbuhan bakteri pada Rf 0,8.

Berdasarkan penelitian Capeda *et al.*, (2011) minyak atsiri tanaman akway mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Senyawa tersebut adalah senyawa linalool, nerolidol, α -pinen dan β -pinen dari golongan terpen. Sedangkan untuk golongan fenol, senyawanya adalah 2,6-dimetoksi fenol.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit kayu akway mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan Kadar Bunuh Minimum (KBM) masing-masing sebesar 5% b/v dan 2,5% b/v. Golongan senyawa dari ekstrak etanol kulit kayu akway yang mempunyai aktivitas antibakteri yaitu terpen dan fenol.

SARAN

Perlu dilakukan optimasi fase gerak KLT, fraksinasi, dan isolasi lebih lanjut terhadap ekstrak etanol kulit kayu akway (*Drymis peperita* Hook. f.).

DAFTAR ACUAN

- Adu, F., Gbedema, S.Y., Akanwariwiak, W. G., Annan, K. & Boamah V.E., 2011, The Effects of *Acanthospermum Hispidum* Extract on The Antibacterial Activity Of Amoxicillin and Ciprofloxacin, *Hygeia Journal for Drugs and Medicines*, 3 (1), 2011, 58- 63.
- Buktiwetan, P., Suryawidjaja, J. E., Salim, O. C., Aidilifit, M. & Lesmana, M., 2001, Diare Bakterial: Etiologi dan Kepekaan antibiotika di Dua Pusat Kesehatan Masyarakat di Jakarta, *Jurnal Kedokteran Trisakti*, 20 (2), 57-65.
- Cepeda, G. N., Santoso, B. D., Lisangan, M. M. & Silamba, I., 2011, Komposisi Kimia Minyak Atsiri Daun akway, *Makara sains*, 15 (1), 63-66.
- Gillespie, S. & Bamford, K., 2009, *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*, Edisi III, Jakarta, Erlangga.
- Gould, D. & Broer, C., 2003, *Mikrobiologi Terapan Untuk Perawat*, Jakarta, EGC.
- Harbone, J. B., 2006, *Metode Fitokimia Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. & Soediro, L., Edisi IV, 5-9, Bandung, ITB.
- Ismunandar, W., 2008, Potensi Antibakteri Kulit Kayu dan Daun Tanaman Akway (*Drymis Sp.*) Dari Papua, *Tesis*, Program Studi Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Jawetz, E., Melnick, J. L. & Adelberg, E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, Diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S. & Alimsardjono, L., Edisi XXII, 212-217, 243-247, Jakarta, Salemba Medika.
- Marpaung, I. M. S., 2008, Potensi Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Kayu dan Daun Tanaman Akway (*Drymis sp.*), *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mhaske, M., Samad, B. N., Jawade, R. & Bhansali, A., 2012, Chemical Agents in Control of Dental Plaque in Dentistry: An Overview of Current Knowledge and Future Challenges, *Pelagia Research Library*, 3 (1), 268-272.
- Mitscher, L. A., Leu, R. P., Bathala, M. S., Wu, W. & Beal, J. L., 1972, Antimicrobial Agents from Higher Plant. I. Introduction Rationale, and methodology, *Lloydia*, 35 (2), 157-166, *cit.*, Astuti, P., Pratiwi, S. U. T., Hertiani, T., Alam, G., Tahir, A. &

- Wahyuono, S., 2002, Marine sponge *Jaspis* sp., A Potential Bioactive Natural source Against Infectious Diseases, *Berkala Ilmu kedokteran*, 34 (3).
- Munawaroh, R., Yuliani, R. & Indrayudha, P., 2012, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Farmasi*, 12, Surakarta, Fakultas Farmasi UMS.
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 188-190, Jakarta, Erlangga.
- Rao, A. S., Nayanatara, A. K., Rasmi K. S., Sharma A., Kumar, A. & Vagashiya, B. D *et al.*, 2011, Potential Antibacterial And Antifungal Activity Of Aqueous Extract Of *Cynodon Dactylon*, *IJPSR*, 2 (11), 2889-2893 .
- Spicer, W. J., 2008, *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2nd edition, 36-37, Melbourne, Elsevier.
- Susilowati, Rofiahika, 2007, Isolasi, Identifikasi Dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus epidermidis* Dari Pus Pasien Di Rumah Sakit Umum Islam Kustati Surakarta Terhadap Beberapa Antibiotik, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Syakir, M., bermawie, N., Agusta H. & Paisey, E. N., 2011, Karakterisasi Sifat Morfologi dan Penyebaran Kayu Akway (*Drymis* sp.) di Papua Barat, *Jurnal Litri*, 17 (4), 169-173.
- Verdeguer, M., Rellàn, D. G., Boira, H., Pérez, E., Gandolfo, S. & Blàzquez, M. A., 2011, Herbicidal Activity of *Peumus boldus* and *Drymis winterii* Essential Oils from Chile, *Journal Molecules*, 16, 403-411.
- Wagner, H. & Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Ed., 350, New York, Springer.