



Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Karamunting Terhadap Pertumbuhan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara In Vitro

Arul Pansyah

Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

Anasthasia Pujiastuti

Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

Alamat: Jl. Diponegoro 186 Ungaran, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah

Korespondensi penulis: thasia_anas@yahoo.com

Abstract. *Karamunting leaves (Rhodomyrtus tomentosa) contain the active compounds saponins, flavonoids, phenols and tannins which are thought to act as antibacterials. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) bacteria is a pathogen that causes infections that are resistant. This study aims to analyze the effect of karamunting leaf extract concentration on the growth of MRSA bacteria in vitro. The research design used was experimental with the disc diffusion method. The concentrations of karamunting leaf extract made were 5, 10, 15, 20 and 25%. The positive control used was ciprofloxacin and the negative control DMSO 10%. The results of the inhibitory zone diameter of the extract concentrations were 5, 10, 15, 20, 25, positive and negative controls were 10 respectively; 16.7; 20; 23.3; 26.7; 36.7 and 0 mm. The results of the Mann Whitney analysis stated that the extract concentration of 5% versus 20%, 25%, positive and negative controls produced a significance value of $p < 0.05$. This means that the diameter of the resulting inhibition zone is influenced by the concentration of karamunting leaf extract.*

Keywords: *antibacterial, karamunting, Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus.*

Abstrak. Daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) memiliki kandungan senyawa aktif saponin, flavonoid, fenol, dan tanin yang diduga berperan sebagai antibakteri. Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan patogen penyebab infeksi yang mengalami resistensi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh konsentrasi ekstrak daun karamunting terhadap pertumbuhan bakteri MRSA secara in vitro. Desain penelitian yang digunakan yaitu eksperimental dengan metode difusi cakram. Konsentrasi ekstrak daun karamunting yang dibuat yaitu 5, 10, 15, 20 dan 25%. Kontrol positif yang digunakan yaitu ciprofloxacin dan kontrol negatif DMSO 10%. Hasil diameter zona hambat ekstrak konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, kontrol positif dan negatif berturut-turut sebesar 10; 16,7; 20; 23,3; 26,7; 36,7 dan 0 mm. Hasil analisis *mann whitney* menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak 5% terhadap 20%, 25%, kontrol positif dan negatif menghasilkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hal ini berarti diameter zona hambat yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak daun karamunting.

Kata kunci: antibakteri, karamunting, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*.

LATAR BELAKANG

Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) merupakan tanaman dari Asia Selatan dan Asia Tenggara. Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) di Indonesia banyak tumbuh di Sumatera, Sulawesi dan Kalimantan Selatan. Bagian dari tumbuhan karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) yang banyak dimanfaatkan yaitu daunnya. Daun karamunting selama ini banyak digunakan dalam pengobatan penyakit diare serta infeksi bakteri. Daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) mengandung metabolit sekunder yaitu glikosida, asam heksasoik, flavonoid, fenol, saponin, serta asam galat. Saponin, tanin, fenol dan flavonoid merupakan metabolit sekunder yang diprediksi memiliki peran sebagai antibakteri (Devi *et al.*, 2012).

Salah satu masalah kesehatan di dunia yaitu penyakit infeksi yang disebabkan bakteri (Barrow & Feltham, 2003). Bakteri penyebab infeksi antara lain yaitu bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri MRSA merupakan *strain* dari *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap *isoxazol penicillin* seperti *methicillin*, *oxacillin* serta *flucloxacillin*. Seluruh antibiotik dari golongan beta laktam telah mengalami resisten silang terhadap bakteri MRSA (Liana, 2014). Pemilihan antibiotik untuk pengobatan menjadi lebih sulit karena bakteri MRSA mengalami multiresisten. Terapi untuk infeksi karena bakteri MRSA dengan menggunakan antibiotik dari golongan *Fluoroquinolon* yaitu *Moxycloxacin* dan *Ciprofloxacin*. Kekurangan dari antibiotik golongan *fluorokuinolon* yaitu memiliki potensi efek samping yang paling serius. Penggunaan antibiotik golongan *fluorokuinolon* yang semakin luas menyebabkan terjadinya peningkatan kecepatan resistensi *fluorokuinolon* terhadap mikroba yang ada di seluruh dunia (Raini, 2017).

Pertumbuhan mikroba patogen dapat dihambat dengan memanfaatkan tanaman obat yang mengandung metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang memiliki efek terapeutik sebagai antibakteri yaitu minyak atsiri, flavonoid, tanin, glikosida serta senyawa aktif lainnya (Wulandari *et al.*, 2020). Beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder tanaman antara lain yaitu maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk tanaman menggunakan pelarut yang cocok dengan polaritas yang sama dalam wadah yang bersifat *inert* dan tertutup rapat kemudian. Wadah tersebut ditempatkan pada suhu ruang dan dilakukan pengadukan secara periodik (Susanty & Bachmid, 2016). Ekstrak yang telah

diekstraksi dapat dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan melakukan pengujian menggunakan metode difusi cakram. Pengujian dengan metode ini menggunakan kertas cakram yang memiliki diameter kurang lebih 6 mm. Kertas cakram dicelupkan pada larutan uji yang mengandung senyawa metabolit sekunder dan diletakkan pada permukaan media agar. Media agar yang digunakan telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji yang sesuai (Sinulingga, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh konsentrasi ekstrak daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) terhadap aktivitas antibakteri MRSA secara in vitro menggunakan metode difusi cakram.

KAJIAN TEORITIS

Karamunting

Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) merupakan salah satu tanaman liar yang banyak tumbuh di lereng gunung dan dilahan kosong yang cukup air. Karamunting merupakan tanaman perdu, yang memiliki ciri-ciri daun tunggal dengan pangkal daun membulat, tepi daun rata dan ujung daun meruncing. Bunga karamunting termasuk bunga majemuk, berwarna ungu kemerah-merahan. Buah karamunting dapat dimakan (Sutomo et al., 2010).

Daun karamunting secara luas telah digunakan oleh masyarakat Kalimantan terutama di Hulu Sungai dan Kutai Barat untuk terapi suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Aktivitas antibakteri dari daun karamunting diperkirakan karena adanya kandungan metabolit sekunder yaitu saponin, tanin, alkaloid, aleuron dan katekol (Sutomo et al., 2010). Saponin dalam tumbuhan dapat berfungsi sebagai antiseptik atau pembersih yang dapat mencegah atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme. Pada luka biasanya terdapat pertumbuhan mikroorganisme, dengan adanya saponin dapat mencegah timbulnya infeksi yang lebih berat. Mekanisme kerja saponin sebagai bakteriostatik yaitu dengan merusak membran sitoplasma bakteri (Y. Putri et al., 2018). Mekanisme kerja tanin berbeda dengan saponin yaitu dengan mengerutkan dinding sel, membran sel bakteri serta denaturasi protein. Permeabilitas sel bakteri dapat diganggu karena kemampuan yang dimiliki tanin dalam mengerutkan dinding sel. Tanin bersifat polar dan termasuk senyawa makromolekul golongan polifenol (Y. Putri et al., 2018).

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan bakteri gram positif yang berbentuk kokus tunggal, berpasangan, atau dalam rantai pendek dan cenderung membentuk kelompok. Bakteri gram positif dapat memproduksi dinding sel luar yang tebal dan terdiri dari peptidoglikan. Peptidoglikan dalam bakteri berfungsi sebagai pelindung dari sistem pertahanan hospes, yaitu kerusakan yang disebabkan karena adanya tekanan osmotik (Dewi, 2019). Bakteri MRSA merupakan salah satu kelompok *strain Staphylococcus aureus* yang tahan terhadap betalaktam dan non betalaktam (Suwito et al., 2014).

Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri yaitu konsentrasi paling kecil yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dinyatakan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Antibakteri dapat diklasifikasikan sebagai bakteristatik, bakterisid, dan bakteriolisis. Klasifikasi tersebut tergantung dari efek yang ditimbulkan terhadap kultur bakteri. Pada umumnya antibiotik bekerja dengan mekanisme bakteristatik yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri. Suatu bahan yang bersifat bakteriosid dapat berikatan kuat dengan target dan tidak dapat hilang apabila diencerkan. Bakteriosid dapat membunuh bakteri tetapi tanpa merusak sel (Madigan *et al.*, 2011). Dinding sel bakteri merupakan lapisan luar yang kaku sehingga dapat menjaga bentuk dan ukuran mikroorganisme. Lisisnya sel bakteri diakibatkan karena adanya kerusakan pada dinding sel (Apriliani, 2015).

Aktivitas antibakteri dikatakan positif jika pada sekitar kertas cakram (*paper disc*) terbentuk area bening. Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram dihitung menggunakan mistar atau jangka sorong. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi beberapa golongan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk yaitu antibakteri resisten (< 12 mm), intermediate (13-17 mm), sensitif (>18 mm) (Pratiwi, 2013). Pengujian aktivitas antibakteri untuk mengetahui kemampuan daya hambat pertumbuhan bakteri salah satunya dapat dilakukan dengan metode difusi. Metode difusi terdiri dari metode lubang (sumuran), metode silinder, dan metode kertas cakram (*paper disc*) (F. K. Dewi, 2010).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah autoklaf, inkubator, *rotary evaporator* RE-2000E, neraca analitik (*Excellent scale*), *hot plate*, *waterbath*. Bahan yang dipakai meliputi daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*), kultur bakteri MRSA, ciprofloxacin infus, etanol 96%, akuades, FeCl₃ 1%, nutrient agar (KGaA), *dimethyl sulfoxide* (DMSO) 10%, asam asetat anhidrat, logam magnesium, kloroform, aluminium foil, NaCl 10%, HCl pekat, gelatin.

Metode Penelitian

Penyiapan sampel

Daun karamunting dicuci di bawah air mengalir, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup menggunakan kain hitam. Daun karamunting kering selanjutnya dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk, kemudian diayak dengan mesh 60.

Ekstraksi sampel

Serbuk daun karamunting diekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam 500 gram serbuk daun karamunting menggunakan 3500 mL etanol 96%. Proses maserasi selama 3x24 jam yang ditempatkan pada suhu kamar dan terlindung dari sinar matahari. Secara periodik dilakukan pengadukan setiap 5 jam. Residu hasil maserasi pertama selanjutnya diremaserasi dengan 1500 mL etanol 96% selama 1x24 jam. Maserat yang dihasilkan digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair yang dihasilkan selanjutnya diuapkan di atas *waterbath* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak daun karamunting yang dihasilkan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Rendeman} = \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat}}{\text{Berat simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

Pemeriksaan kadar air

Ekstrak daun karamunting dilakukan pemeriksaan kadar air menggunakan alat *Moisture Analyser*. Sebanyak 3 gram ekstrak daun karamunting dimasukkan ke dalam *Moisture Analyser* dan dioperasikan hingga muncul pada *display* alat nilai kadar airnya.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak daun karamunting. Identifikasi yang dilakukan yaitu kandungan tanin, saponin, flavonoid dan fenol.

a. Identifikasi tanin

Identifikasi tanin dilakukan dengan cara sebanyak 3 gram ekstrak daun karamunting ditambah akuades panas lalu didinginkan. Sebanyak 5 tetes NaCl 10% ditambahkan pada larutan ekstrak, selanjutnya dilakukan penyaringan. Filtrat yang dihasilkan kemudian ditambah gelatin dan diamati perubahan yang terjadi.

b. Identifikasi saponin

Identifikasi saponin dilakukan menggunakan metode Forth. Metode Forth dilakukan dengan cara memasukkan 2 gram ekstrak daun karamunting ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL akuades. Larutan kemudian dikocok selama 30 detik dan diamati perubahan yang terjadi. Larutan dinyatakan positif mengandung saponin jika terbentuk busa yang mantap dan tidak hilang selama 30 detik.

c. Identifikasi flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menambahkan 1 gram ekstrak daun karamunting dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL etanol. Pada tabung reaksi selanjutnya ditambahkan 1,5 gram serbuk magnesiaum dan beberapa tetes HCl pekat. Terbentuknya warna pink atau merah magenta dalam waktu 3 menit menyatakan adanya flavonoid.

d. Identifikasi fenol

Identifikasi fenol dengan cara memasukkan 1 gram ekstrak daun karamunting dan FeCl_3 1% sebanyak 2 tetes ke dalam tabung reaksi. Terbentuknya warna hijau atau hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan fenol.

Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan harus dilakukan sterilisasi. Penyiapan alat sebelum dilakukan proses sterilisasi yaitu setiap alat gelas yang akan digunakan harus dibungkus menggunakan kertas. Alat gelas yang telah dibungkus selanjutnya disterilisasi menggunakan oven selama 60 menit pada suhu 200°C . Proses sterilisasi jarum ose dilakukan setiap akan digunakan dengan cara dipanaskan pada api spiritus hingga memijar berwarna merah.

Pembuatan media Nutrien Agar (NA)

Pembuatan media pertumbuhan bakteri dimulai dengan menimbang 5 gram serbuk NA dan dilarutkan dalam akuades 250 mL dan dipanaskan hingga larut dan diaduk homogen. Media NA sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan yang lain dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Tabung reaksi ditutup dengan kapas dan Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil. Media NA dalam tabung reaksi dan Erlenmeyer disterilkan menggunakan metode panas basah yaitu dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media NA dalam tabung reaksi yang telah steril selanjutnya disimpan dengan cara dimiringkan untuk menghasilkan media agar miring (Ro'Isah, 2019).

Inokulasi bakteri MRSA

Inokulasi bakteri MRSA dilakukan pada tabung reaksi yang berisi media agar miring. Kultur bakteri MRSA diambil menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan pada api bunsen, kemudian digoreskan pada media agar miring. Ose yang telah digunakan dipanaskan kembali hingga memijar. Media pertumbuhan agar miring yang telah mengandung bakteri MRSA di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

Identifikasi Bakteri MRSA

Bakteri MRSA dilakukan identifikasi dengan metode pewarnaan gram. Pewarnaan bakteri dilakukan dengan cara menyiapkan kaca objek yang telah dibersihkan menggunakan alkohol 96%. Pada kaca objek ditambahkan 1 tetes akuades dan 1 koloni biakan bakteri MRSA yang diambil dengan jarum ose steril, kemudian dihomogenkan. Bagian bawah kaca objek dilewatkan di atas api Bunsen 2-3 kali. Kaca objek yang telah kering selanjutnya ditetesi dengan pewarna *Crystal Violet* dan ditunggu 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir. Aliran air yang digunakan cukup kecil supaya tidak menghilangkan koloni bakteri yang ada di kaca objek. Kaca objek kemudian ditetesi dengan lugol dan ditunggu 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir. Tahap selanjutnya kaca objek ditetesi dengan alkohol 96% dan dibilas air mengalir. Tahap berikutnya kaca objek ditetesi dengan pewarna safranin dan ditunggu 1 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Kaca objek dikeringkan dengan tisu bagian tepinya. Kaca objek selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 x 10. Bakteri MRSA merupakan bakteri gram positif yang berwarna ungu dan berbentuk kokus.

Uji aktivitas antibakteri

Pengujian antibakteri dimulai dengan melakukan penyiapan mikroba uji. Beberapa koloni bakteri MRSA pada media agar miring diambil dan disuspensikan ke dalam 0,5 mL *Brain Heart Infusion* (BHI) cair. Suspensi mikroba yang dihasilkan selanjutnya dicocokkan tingkat kekeruhannya dengan larutan Mc Farland. Media NA cair yang telah disterilkan dimasukkan dalam cawan petri dan didinginkan sampai suhu 40°C kemudian dicampurkan dengan suspensi bakteri dan ditunggu hingga membeku. Cawan petri yang Langkah selanjutnya yaitu memberikan label identitas sampel pada bagian belakang cawan petri yang dibagi jadi 5 sektor. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak daun karamunting konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25%. Ekstrak daun karamunting setiap konsentrasi dilarutkan menggunakan 10 mL larutan DMSO 10%. Pada penelitian ini menggunakan kontrol negatif larutan DMSO 10% dan kontrol positif antibiotik ciprofloxacin. *Paper disk* dicelupkan pada tiap sampel yang akan diujikan dan dipasangkan pada cawan petri sesuai sektor yang telah dibuat. Cawan petri selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Pertumbuhan bakteri pada cawan petri yang telah diinkubasi selanjutnya diukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar *paper disk* dengan jangka sorong. Rumus untuk menghitung diameter hambatan ekstrak sebagai berikut:

Indeks Penghambatan (IP) = Diameter Zona Bening – Diameter Zona Kertas Cakram

Analisis Data

Data aktivitas antibakteri di analisis secara statistik menggunakan *software* SPSS versi 25. Analisis yang dilakukan diawali dengan uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov*) dan uji homogenitas (uji *Levene*). Apabila sebaran data yang dihasilkan normal dan homogeny, analisis dilanjutkan dengan analisis varian satu arah (Anova). Apabila sebaran data tidak normal dan homogen maka analisis data menggunakan analisis *Kruskal Wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Daun karamunting yang digunakan pada penelitian ini adalah daun yang berwarna hijau muda. Daun karamunting basah yang digunakan yaitu sebanyak 2 kg. Serbuk daun karamunting yang dihasilkan sebesar 1.000 gram. Kadar air ekstrak daun karamunting yaitu sebesar 9,76%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar air serbuk daun

karamunting memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 10%. Proses ekstraksi serbuk daun karamunting menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% diperoleh hasil ekstrak kental sebanyak 57,40 gram dan rendemen sebesar 11,48%. Hasil rendemen tersebut telah memenuhi syarat yang tercantum dalam Farmakope Herbal yaitu tidak kurang dari 7,2% (Kemenkes RI, 2017). Rendemen ekstrak daun karamunting yang dihasilkan pada penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian (Deniansyah & Pujiastuti, 2022) yaitu sebesar 11,9%. Pada penelitian ini hasil organoleptis ekstrak kental daun karamunting yaitu berwarna coklat kehitaman, bau yang khas dan rasa sepat.

Skrining Fitokimia

Hasil identifikasi senyawa aktif dalam ekstrak daun karamunting yaitu mengandung senyawa metabolit sekunder tanin, saponin, flavonoid, dan fenol. Hasil identifikasi senyawa aktif dalam ekstrak daun karamunting dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Karamunting

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Tanin	Gelatin + NaCl	+	Endapan putih
Saponin	Akuades + dikocok	+	Buih lebih dari 30 detik
Flavonoid	Serbuk magnesium + HCl pekat	+	Warna merah magenta dalam waktu 3 menit
Fenol	FeCl ₃ 1%	+	Warna hijau kehitaman

Keterangan : (+) = mengandung metabolit sekunder

Hasil skrining fitokimia pada tabel 1 dapat diketahui bahwa hasil identifikasi ekstrak daun karamunting menunjukkan hasil positif tanin yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih setelah penambahan gelatin dan NaCl 10%. Tanin cenderung bersifat polar sehingga dapat diekstraksi secara optimal dengan pelarut bersifat polar (Nofita & Dewangga, 2022). Hal ini berarti senyawa tanin dalam daun karamunting dapat diekstraksi secara optimal dengan etanol 96%, sehingga hasil identifikasi positif tanin.

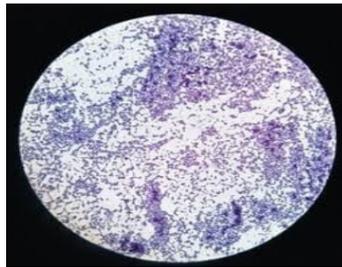
Hasil identifikasi ekstrak menyatakan positif saponin yang ditandai dengan terbentuknya buih > 30 detik. Hasil identifikasi positif saponin dikarenakan saponin memiliki sifat polar sehingga dapat terekstrak oleh pelarut etanol 96% yang juga bersifat polar. Saponin dapat diekstraksi dengan tepat menggunakan pelarut polar seperti etanol 70 – 95% atau metanol (P. A. Putri et al., 2023). Hal ini karena saponin memiliki polaritas yang sama dengan etanol dan metanol.

Identifikasi pada ekstrak daun karamunting menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid. Hasil positif ditandai dengan adanya warna merah magenta pada larutan. Senyawa flavonoid dapat larut dalam pelarut yang bersifat semi polar dan polar (Harborne, 1987). Hal ini berarti flavonoid dalam daun karamunting dapat terekstrak oleh etanol 96%.

Identifikasi ekstrak daun karamunting menunjukkan hasil positif mengandung fenol. Hasil positif fenol ditandai dengan diketahui karena terbentuk warna hijau kehitaman saat ekstrak daun karamunting ditambahkan larutan FeCl_3 1%.

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri MRSA yang diinokulasikan pada media agar menunjukkan hasil pertumbuhan koloni positif terhadap *Staphylococcus aureus*. Karakteristik koloni berwarna ungu. Hasil uji pewarnaan bakteri MRSA dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil Identifikasi Bakteri MRSA

Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun karamunting memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Hal ini diketahui dari timbulnya zona bening di sekitar cakram (*paper disc*). Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun karamunting dapat dilihat pada tabel 2.

Berdasarkan data hasil pengujian pada tabel 2 diketahui bahwa rata-rata hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun karamunting berturut-turut yaitu 10; 16,7 ; 20; 23,3 dan 26,7 mm. Klasifikasi diameter zona hambat suatu bahan alam terhadap bakteri uji termasuk kategori rendah jika diameternya < 5 mm, 6-10 mm kategori sedang, 11-20 mm kategori kuat, dan > 21 mm termasuk dalam kategori daya hambat sangat kuat (Susanto, *et.al*, (2014). Daya hambat ekstrak etanol daun karamunting terhadap pertumbuhan bakteri MRSA pada konsentrasi 5% termasuk dalam kategori daya hambat

sedang, konsentrasi 10% dan 15% termasuk dalam kategori daya hambat kuat sedangkan konsentrasi 20% dan 25% termasuk dalam kategori menghambat sangat kuat.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Karamunting

Sampel	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) ± SD
Ekstrak daun karamunting 5%	10 ± 0,000
Ekstrak daun karamunting 10%	16,7 ± 11,547
Ekstrak daun karamunting 15%	20 ± 10,000
Ekstrak daun karamunting 20%	23,3 ± 5,774 ^a
Ekstrak daun karamunting 25%	26,7 ± 5,774 ^a
Kontrol positif	36,7 ± 15,275 ^a
Kontrol negatif	0 ± 0,000 ^a

Keterangan :

SD = Standar Deviasi

^a = hasil analisis *mann whitney* dengan nilai signifikansi < 0,05

Diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa dalam kertas cakram mengandung zat aktif yang sudah dijenuhkan dengan ekstrak daun karamunting yang berdifusi pada media nutrient agar (NA). Aktivitas antibakteri dari senyawa aktif dalam ekstrak daun karamunting melalui mekanisme penghambatan sintesis dinding sel, permeabilitas dinding sel bakteri, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Pada pertumbuhan bakteri MRSA membentuk zona hambat di sekitar *paper disc* yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada daun karamunting. Adanya zona hambat tersebut diakibatkan karena pertumbuhan bakteri terhambat oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun karamunting.

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA dari berbagai konsentrasi ekstrak daun karamunting menghasilkan nilai yang berbeda. Konsentrasi ekstrak etanol daun karamunting yang semakin meningkat menghasilkan diameter zona hambat yang semakin luas. Peningkatan diameter zona hambat terbesar yaitu pada konsentrasi 5% ke 10% yaitu sebesar 6,7 mm. Peningkatan diameter zona hambat dari konsentrasi 10% ke 15% sebesar 3,7 mm; 15% ke 20% sebesar 3,3 mm, dan 20% ke 25% sebesar 3,4 mm.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu antibiotik ciprofloxacin dengan diameter zona hambat sebesar 36,7 mm termasuk kategori sangat kuat. Kontrol positif dapat digunakan sebagai indikator bahwa nutrien agar sebagai media pertumbuhan

untuk pengujian daya hambat bakteri yang digunakan dalam kondisi baik dan tidak mempengaruhi hasil pengujian. Kontrol positif antibiotik ciprofloxacin dapat membentuk zona hambat pada media NA yang digunakan. Hal ini berarti antibiotik ciprofloxacin dapat berdifusi dengan baik ke dalam media pertumbuhan NA yang digunakan. Ciprofoxacin merupakan antibiotik sintetik kelompok kuinolon yang mempunyai aktivitas antibakteri. Ciprofloxacin merupakan antibiotik yang paling aktif terhadap gram positif, terutama bakteri MRSA. Kontrol positif ciprofloxacin menghasilkan diameter zona hambat yang tergolong kategori sensitif dan resisten. Hasil tersebut membuktikan bahwa ciprofloxacin memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Mekanisme kerja penghambatannya yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat (Pratiwi, 2013).

Kontrol negatif pada penelitian ini adalah larutan DMSO 10%. Penggunaan kontrol negatif dalam pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut yang digunakan pada pengenceran ekstrak daun karamunting. Berdasarkan tabel 2 dapat dilihat bahwa kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat atau 0 mm. Hasil tersebut berarti larutan DMSO 10% yang digunakan untuk melarutkan ekstrak daun karamunting tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil diameter zona hambat dari ekstrak.

Hasil analisis statistik data diameter zona hambat menyatakan uji normalitas pada semua perlakuan terdistribusi tidak normal, sehingga dilanjutkan uji beda menggunakan *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi 0,010 ($p < 0,05$). Hal ini berarti diameter zona hambat yang dihasilkan pada sampel terdapat perbedaan yang bermakna. Analisis dilanjutkan dengan uji *mann whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Berdasarkan data yang ditampilkan pada tabel 2 dapat diketahui bahwa kelompok ekstrak daun karamunting konsentrasi 5% terhadap ekstrak 20%, 25%, kontrol positif dan negatif menghasilkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hasil tersebut menyatakan bahwa diameter zona hambat pada perlakuan tersebut berbeda bermakna. Hasil statistik menyatakan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan pada tiap perlakuan dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak daun karamunting yang ditambahkan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini yaitu ekstrak daun karamunting mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA. Pertumbuhan bakteri MRSA dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak daun karamunting dengan hasil diameter zona hambat dalam kategori sangat kuat yaitu konsentrasi 20% dan 25% sebesar 23,3 mm dan 26,7 mm.

Saran untuk penelitian berikutnya yaitu perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun karamunting secara in vivo. Ekstrak daun karamunting juga dapat diformulasikan menjadi sediaan antibakteri dan diuji aktivitas antibakterinya secara in vitro dan in vivo untuk memastikan efektivitasnya.

DAFTAR REFERENSI

- Apriliansi, R. D. P. (2015). Uji Efektivitas Ekstrak Segar Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Bakteri (*Staphylococcus aureus*) Secara In Vitro. *Jurnal Penelitian Dan Kajian Ilmiah Kesehatan*, 1(2), 90–94.
- Barrow, G. I., & Feltham, R. K. A. (2003). *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria*. Cambridge University Press.
- Deniansyah, & Pujiastuti, A. (2022). Formulasi dan Uji Mutu Fisik Sediaan Krim Ekstrak Daun Karamunting (*Rhodomlytus tomentosa*). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 05(01), 51–59.
- Devi AS, Rajkumar J, Modilal MRD, Ilayaraja R. 2012. Antimicrobial activities of *Avicennia marina*, *Caesalpinia pulcherrima* and *Melastoma malabathricum* Against Clinical Pathogens Isolated from UTI. *International Journal of Pharmacy and Biology Sciences*. Vol 3(3):698-705.
- Dewi, F. K. (2010). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*, 9(1), 76–99.
- Dewi, G. A. P. W. P. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Karya Tulis Ilmiah*, Polteknik Kesehatan Kemenkes Denpasar.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Kemenkes RI. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. In *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*. <https://doi.org/10.1201/b12934-13>
- Liana, P. (2014). *Gambaran Kuman Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Patologi Klinik Rumah Sakit*. 3, 171–175.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl, DA. Clark, DP. 2011. Brock: *Biology of*

microorganisms (13th ed.). Pearson.

- Nofita, D., & Dewangga, R. (2022). Optimasi Perbandingan Pelarut Etanol Air Terhadap Kadar Tanin pada Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) Secara Spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*, 9(3), 102–106. <https://doi.org/10.24198/cna.v9.n3.36768>
- Pratiwi, D. S. (2013). Kajian Uji Resistensi Dan Sensitivitas Antibiotik Ceftriaxon dan Ciprofloxacin pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di RSUP Fatmawati. *Skripsi*, 1–77.
- Putri, P. A., Chatri, M., & Advinda, L. (2023). Characteristics of Saponin Secondary Metabolite Compounds in Plants Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*, 8(2), 251–258.
- Putri, Y., Kusmiadi, R., & Aini, S. N. (2018). Peningkatan Kualitas Lada Putih dengan Kombinasi Lama Perendaman dan Penambahan Daun Karamunting (*Melastoma malabathricum*). *AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pertanian*, 2(2), 44–52. <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v2i2.22>
- Raini, M. (2017). Antibiotik Golongan Fluorokuinolon: Manfaat dan Kerugian. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 26(3), 163–174. <https://doi.org/10.22435/mpk.v26i3.4449.163-174>
- Ro'Isah, K. (2019). Pengaruh Pemaparan Light Emitting Diode (Led) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Listeria monocytogenes*, Ph, dan Organoleptik pada Jus Apel. *Central Library of Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang*.
- Sinulingga, S. E. (2017). Efek Angiogenesis Salep Fraksi Etil Asetat Daun Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa* (Aiton) Hassk) Terhadap Luka Tikus Yang Diinfeksi Dengan Bakteri. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara.
- Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87. <https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92>
- Sutomo, Arnida, Febri H, & Muhammad Y. (2010). Kajian Farmakognostik Simplisia Daun Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa*) Asal Pelaihari Kalimantan Selatan. *Sains Dan Terapan Kimia*, 4(1), 38–50.
- Suwito, W., Nugroho, W. S., Wahyuni, A., Pramuditya, Y. V, & Widanarto, R. (2014). Determination of *mecA* Gene in *Staphylococcus* spp., Isolate Subclinical Mastitis Ettawa Crossbred Goat Milk in Sleman Regency. *Animal Production*, 16(2), 133–139. <http://animalproduction.net/index.php/JAP/article/view/457>
- Wulandari, S., Pranata, C., Sihombing, Y. R., & Nasution, M. H. (2020). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi*. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, 2(2), 102–108. <https://doi.org/10.35451/jfm.v2i2.382>