

Antibacterial Evaluation of Agarwood (*Aquilaria malaccensis*) Leaf Ethanol Extract Against Pathogenic Bacteria Using TLC-Bioautography

Rivaldy Marsaoly¹

¹Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info Received: 18/03/2024	ABSTRACT <i>Pathogenic bacteria are microorganisms that live in the human body that cause disease, such as the bacteria bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, and Escherichia coli. compounds such as flavanoid compounds, alcolloids, saponins, tannins, and terpenoids that has antibacterial properties The purpose of this research was to determine the antibacterial activity of agarwood leaf ethanol extract (Aquilaria malaccensis) against pathogenic bacteria by TLC - bioautography. The results shown that agarwood leaf ethanol extract (Aquilaria malaccensis) has potential as antibacterial against, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, and Escherichia coli, with three active spots identified in the bioautogram profiles an Rf value of 0.20 demonstrated inhibition against Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, and Escherichia coli. Additionally, Rf values of 0.50 and 0.36 exhibited inhibitory effects against Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli, highlighting the potential of agarwood leaf ethanol extract in combating pathogenic bacteria.</i>
Available online: 04/11/2024	
Corresponding Author: Nurul Imada Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, Indonesia email: 15020170204@umi.ac.id	
Keyword:	<i>Aquilaria malaccensis, Pathogenic bacteria, TLC - bioautography</i>



Copyright ©2024 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Bakteri patogen merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Bakteri patogen merupakan bakteri yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia¹. Bakteri patogen dapat disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau jamur². Penyebab timbulnya bakteri patogen di Indonesia yang dipengaruhi oleh iklim juga didukung oleh beberapa faktor lain, misalnya kesadaran masyarakat akan kebersihan yang kurang, jumlah penduduk yang padat, kurangnya

pengetahuan dan implementasi dari sebagian besar masyarakat mengenai dasar patogen, prosedur yang tidak aman (penggunaan antibiotik yang dipergunakan tidak tepat), serta kurangnya pedoman dan juga kebijakan dari pemerintah mengenai penggunaan antibiotic².

Pengobatan yang biasa digunakan dalam penanganan infeksi oleh bakteri yaitu suatu formula yang mengandung zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau bahkan membunuhnya yang dikenal sebagai antibakteri atau biasa disebut sebagai antibiotik.³ Daun gaharu mengandung senyawa metabolit sekunder

seperti flavanoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid yang memiliki manfaat sebagai antibakteri. Tanaman gaharu dapat dimanfaatkan karena mengandung senyawa antibakteri yang dapat membantu dalam proses penyembuhan⁴. Secara empiris daun gaharu memiliki aktivitas yang menguntungkan bagi kesehatan berupa aktivitas antioksidan, analgesik antipiretik, antiinflamasi, antihiperlikemia, dan antimikroba⁵. Hal ini yang mendasari perlunya dilakukan penelitian mengenai aktivitas antimikroba dari daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) secara KLT-Bioautografi. Untuk menentukan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*). Untuk menentukan profil bioautogram ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) terhadap bakteri uji.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah i, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* lempeng KLT, Etanol 96%, medium Natrium Agar (NA), ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*)

Pengambilan dan penyiapan sampel

Sampel daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) didapatkan dari Desa Barembeng Kabupaten Gowa Provinsi Sulawesi Selatan. Selanjutnya sampel dikumpulkan dan dilakukan sortasi basah, dibersihkan dengan air mengalir, dirajang,

dan dikeringkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung, setelah itu dilakukan sortasi kering. Kemudian sampel diserbukkan dan diperoleh serbuk simplisia kering⁵

Pembuatan ekstrak

Berat simplisia dimasukkan kedalam wadah maserasi. Setelah itu pelarut etanol 96 % dimasukkan ke dalam wadah sebanyak 2000 mL hingga simplisia terendam. Sampel dibiarkan selama 3x24 jam dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya dan sesekali diaduk. Setelah proses ekstraksi pertama selesai, ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut yang baru sebanyak tiga kali. Hal ini dilakukan hingga proses ekstraksi sempurna. Hasil ekstrak yang telah didapatkan lalu diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator, hingga diperoleh ekstrak kental yang siap digunakan⁶

Penyiapan bakteri uji

Peremajaan bakteri uji Peremajaan kultur murni bakteri uji. Mikroba diambil dari biakan masing-masing 1 ose kemudian diinokulasi pada medium NA miring. Masing-masing mikroba diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C pada bakteri. Setelah itu dapat digunakan sebagai mikroba uji⁸. Pembuatan suspensi bakteri uji Mikroba uji hasil peremajaan, masing-masing disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan kedalam kuvet, kemudian diukur transmitannya

menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada 25% untuk bakteri. Sebagai blanko digunakan NaCl fisiologis 0,9% steril⁸

Uji skrining antibakteri

Sampel ekstrak etanol daun gaharu ditimbang sebanyak 10 mg dimasukkan ke dalam vial lalu ditambahkan DMSO sebanyak 0,2 mL kemudian dilarutkan. Setelah larut ditambahkan medium Nutrient Agar (NA) sebanyak 9,8 mL sehingga diperoleh konsentrasi 5 mg/mL. Kemudian campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri lalu dihomogenkan dan biarkan memadat. Bakteri yang telah disuspensikan masing-masing diambil 1 ose dan digoreskan di atas medium. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam, setelah itu diamati aktivitas antibakterinya yang di tandai dengan ada atau tidak adanya pertumbuhan bakteri⁹

Pemisahan secara kromatografi lapis tipis

Ekstrak sampel yang menunjukkan zona hambatan dipisahkan secara KLT menggunakan plat KLT teraktivasi dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C dengan waktu ±30 menit sebelum digunakan. Sampel ditotolkan pada plat yang berukuran 6x1 cm dan dielusikan dalam ruang jenuh dengan eluen dari atas plat hingga batas 0,5 cm. Keluarkan plat dari chamber dan angin-anginkan sampai eluen menguap. Selanjutnya, pengamatan dilakukan di bawah sinar UV 254 nm dan UV

366 nm, plat yang telah dielusikan disemprot dengan penampak bercak. Kemudian hitung nilai Rf¹⁰

Pengujian secara KLT-Bioautografi

Pengujian Secara KLT-Bioautografi Hasil identifikasi secara KLT dengan eluen dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi dengan cara medium NA (Nutrient agar) sebanyak 10 ml dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptis lalu biarkan sampai media memadat, selanjutnya ditambahkan bakteri uji sebanyak 20 µL, lalu dihomogenkan. Kemudian lempeng KLT yang telah dielusikan diletakkan di atas permukaan medium NA yang memadat. Lalu diamkan selama 30 menit, kemudian lempeng (kromatogram) diangkat dan dikeluarkan dari medium. Kemudian dilakukan inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C lalu diamati zona hambatan tertentu¹¹.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tabel 1 menunjukkan hasil ekstraksi yang diperoleh dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 45,6 gram ekstrak etanol kental dengan persen rendamen 15,2%. Tujuan dilakukan perhitungan persen rendamen untuk menentukan perbandingan berat akhir ekstrak yang diperoleh dengan berat awal simplisia serta untuk mengetahui banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan yang terekstraksi.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis*)

Jenis sampel	Berat simplisa (g)	Volume pelarut (mL)	Berat Ekstrak (g)	Persen rendamen (%)
Daun Gaharu (<i>Aquilaria malaccensis</i>)	300	1000	45,6	15,2%

Tabel 2. Hasil Pengujian Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis*) Dengan Konsentrasi 0,1% dan 0,5%

Bakteri uji	Konsentrasi	
	0,1%	0,5%
<i>B. subtilis</i>	-	+
<i>E. coli</i>	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	+

Ket. : (+) menghambat pertumbuhan bakteri, (-) tidak menghambat pertumbuhan bakteri

Pada tabel 2 menunjukkan hasil uji skrining aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gaharu dengan menggunakan konsentrasi 0,1%. Hasil yang diperoleh menunjukkan tidak ada penghambatan terhadap aktivitas antibakteri. Pada

konsentrasi 0,5% yang ditunjukkan dapat menghambat bakteri *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Hal ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada goresan dalam medium.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis*) Secara KLT- Bioautografi Dengan Eluen En heksan : Etil (4:2)

Nilai Rf	Penampak bercak		Bakteri yang dihambat
	UV254	UV366	
0,20	hijau	ungu	<i>B.subtilis</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>E.coli</i>
0,36	hijau	ungu	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E.coli</i>
0,50	hijau	ungu	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E.coli</i>

Pada tabel 3 diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa terdapat bercak aktif di tiap-tiap KLT dengan nilai Rf 0,20 untuk

bakteri *Bacillus subtilis*, untuk *Escherichia coli* terdapat tiga bercak dengan nilai RF nya 0,50, 0,36 dan 0,20, dan untuk

Pseudomonas aeruginosa memiliki tiga bercak dengan nilai RF nya 0,50, 0,36 dan 0,20. Penghambatan ini ditandai dengan terbentuknya zona bening pada permukaan medium tempat lempeng berdifusi. Terbentuknya zona bening karena adanya senyawa kimia aktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun gaharu yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol dari daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) menunjukkan potensi sebagai agen antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Basillus subtilis*, dan *Escherichia coli* berdasarkan hasil uji aktivitas menggunakan metode KLT-Bioautografi. Profil bioautogram dari ekstrak ini menunjukkan banyak bercak aktif dengan nilai RF 0,20 yang menghambat ketiga bakteri tersebut, serta nilai RF 0,50 dan 0,36 yang efektif menghambat *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Solin AR, Hasanah O, Nurchayati S. Hubungan Kejadian Penyakit Infeksi Terhadap Kejadian *Stunting* Pada Balita 1-4 Tahun. *Jom Fkp*. 2019; 6(1):65–71
- Putri EYP, Mulyanti D, Umayah E. Kajian Potensi Penyebaran Mikroorganisme Patogen Penyebab ISPA Dan Diare Berdasarkan Kondisi Geografis Dan Demografis Wilayah Indonesia. In: *Bandung Conference Series: Pharmacy*. 2022, pp. 884–890
- Magani AK, Tallei TE, Kolondam BJ. Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *J Bios Logos*. 2020; 10(1):7–12
- Wahid AR, Ittiqo DH. Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus Aureus* Ekstrak Daun Gaharu (*Aquilaria Malea* L.) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2019; 2(1):34–43
- Sari R, Muhani M, Fajriaty I. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria Microcarpa* Baill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Proteus Mirabilis*. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017; 4(3):4
- Daud NS et al. Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Daun Stroberi (*Fragaria x Ananassa* AN Duch) Asal Malino, Sulawesi Selatan. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*. 2022; 8(2):165–176
- Suryana S, Prasetiawati R. Antimicrobial and Antioxidan Activities of Ethanol Extract of Roots and Agarwood Branch (*Aquilaria Moluccensis* Oken.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 2017; 8(1):1–20
- Juniasti S, Kosman R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) Asal Kota Watampone. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2015; 7(1):60–69
- Razak AR, Ridhay A, Sumarni NK, Rahim EA. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Johar (*Senna Siamea* Lam) Pada Berbagai Polaritas Pelarut. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*. 2022; 8(2):184–195
- Aslah A, Lolo WA, Jayanto I. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis KLT-Bioautografi Dari Fraksi Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.). *Pharmacon*. 2019; 8(2):505–515