

*The Impact of Ethyl Acetate Extract from Sisik Naga Leaf (*Pyrrrosia piloselloides* (L) Presl) on *Staphylococcus aureus**

Pengaruh Ekstrak etil Asetat dari Daun Sisik Naga (*Pyrrrosia piloselloides* (L) Presl) terhadap *Staphylococcus aureus*

Arfiandi^{*1}, Neri Fadjria¹, Dewi Nofita¹, Putri Nandinanti¹

¹Akademi Farmasi Dwi Farma, Bukit Tinggi, Sumatera Barat, Indonesia.

*e-mail author: arfiandimfarmapt@gmail.com

ABSTRACT

The primary focus of this study revolves around the microbiological assessment of the effectiveness of ethyl acetate extract derived from Dragon's Scales Leaf (*Pyrrrosia piloselloides* (L)) against *Staphylococcus aureus*. The employed method entailed the use of the diffusion technique with paper discs. The ethyl acetate extract of Dragon's Scales Leaf was formulated in three distinct concentrations, namely 40%, 60%, and 80%. In addition, Gentamicin at a 1% concentration served as the positive control. The measurements yielded inhibitory zone diameters of 14.05 mm, 15.49 mm, 14.90 mm, and 14.81 mm for the ethyl acetate extract and Gentamicin, respectively. This investigation's observed inhibitory zone diameters fall within the 'weak' category, with the highest extract concentration displaying a strength equivalent to Gentamicin as the positive control. In light of these findings, it can be concluded that the ethyl acetate extract of Dragon's Scales Leaf (*Pyrrrosia piloselloides* (L)) can impede the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: antibacterial sisik naga leaves, agar diffusion method, ethyl acetate extract.

ABSTRAK

Fokus penelitian ini adalah melakukan uji mikrobiologi terhadap aktivitas ekstrak etil asetat dari daun sisik naga (*Pyrrrosia piloselloides* (L)) terhadap *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan melibatkan metode difusi dengan menggunakan cakram kertas. Ekstrak etil asetat dari daun sisik naga disiapkan dalam tiga konsentrasi yang berbeda, yaitu 40%, 60%, dan 80%. Sebagai kontrol positif, digunakan gentamisin dengan konsentrasi 1%. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa diameter daerah hambatan ekstrak etil asetat dan gentamisin berturut-turut adalah 14,05 mm, 15,49 mm, 14,90 mm, dan 14,81 mm. Berdasarkan hasil ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat dari daun sisik naga memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, meskipun dengan kekuatan yang dapat dikategorikan sebagai lemah. Konsentrasi tertinggi dari ekstrak menunjukkan hasil yang serupa dengan gentamisin sebagai kontrol positif.

Kata kunci: antibakteri daun sisik naga, metode difusi agar, ekstrak etil aseta.

PENDAHULUAN

Tanaman sisik naga (*Pyrrhosia piloselloides* [L.] Presl) telah lama digunakan oleh penduduk Indonesia sebagai alternatif pengobatan untuk mengatasi beragam jenis penyakit. Banyak penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi manfaat dari bagian daun tanaman ini. Pada tahun 2017, Marjoni, Riza, dan lainnya telah menguji ekstrak air daun sisik naga dan menemukan aktivitas analgetiknya. Daun sisik naga mengandung berbagai senyawa kimia seperti saponin, fenol, flavonoid, sterol, dan tannin (Arif, dkk, 2018). Senyawa-senyawa bioaktif ini dapat memiliki sifat antifungi (Untu, S., 2019) dan antibakteri (Rahmawati, R., 2014). Pada tahun 2014, Yanti dan Sari melakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan ekstrak etanol dari daun sisik naga terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap methicillin (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*).

Salah satu jenis bakteri anaerob gram positif yang memiliki peran penting dalam menyebabkan penyakit pada manusia adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini dapat menyebabkan beragam infeksi, mulai dari masalah kulit yang ringan hingga infeksi yang serius pada sistemik, dan juga sering menjadi sumber kontaminasi dalam makanan. Gejala keracunan makanan yang disebabkan oleh bakteri ini meliputi kram perut, muntah-muntah, yang terkadang diikuti oleh diare. Selain itu, bakteri ini juga dikenal memiliki ketahanan terhadap antibiotic (Le Loir Y, Boron F, Gautier M. (2013).

Untuk mengevaluasi sejauh mana tanaman ini dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, peneliti menerapkan metode difusi cakram kertas, sebuah pendekatan uji hambatan, dengan tiga variasi konsentrasi ekstrak yang berbeda, yakni 40%, 60%, dan 80%.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan penelitian yang akan digunakan yakni daun sisik naga (*Pyrrhosia piloselloides* (L)) segar, bakteri *Staphylococcus aureus*, Nutrien Agar, NaCl Fisiologis, etil asetat dan BaCl₂, H₂SO₄, Gentamycin.

Sedangkan untuk alat yang digunakan pada penelitian ini yakni pisau, timbangan, stempel, botol gelap bermulut lebar, corong, kain kassa, gelas ukur, becker glas, alat destilasi vakum, tisu, kain flannel,

autoklaf, erlenmeyer, kaki tiga, korek api, asbes, batang pengaduk, tabung reaksi, cawan petri, kertas label, kapas, benang jagung, gunting, perkamen, kertas cakram Wathman, vial, penetes, laminar air flow, jarum ose, pinset, lampu spiritus, incubator, jangka sorong dan alat spektrofotometer UV-Vis.

Prosedur Penelitian

1. Pengelolaan Sampel

Daun sisik naga (*Pyrrhosia piloselloides* (L)) dicuci bersih, di Rajang, dikering anginkan, ditimbang sebanyak 700 gram, kemudian dimasukkan kedalam botol gelap bermulut lebar, rendam dengan etil asetat hingga selapis di atas sampel, selama 3 hari sambil di kocok 1 kali sehari. Hasil maserasi di saring, ulangi maserasi sebanyak 3 kali. Maserasi 1, 2, dan 3 di campurkan, dan dilanjutkan destilasi hingga memperoleh ekstrak kental lalu timbang ekstrak.

2. Tahap Uji Aktivasi Antibakteri

a. Peremajaan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Nutrient Agar (NA) ditimbang sebanyak 0,6 gram tambah aquadest hingga 30 ml dan panaskan hingga larut di dalam Erlenmeyer. Larutan agar dipindahkan kedalam tabung reaksi 10 ml, tutup tabung reaksi dengan kapas yang telah dilapisi dengan kasa. Proses pensterilan dilanjutkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C. Pindahkan Nutrien Agar steril ke dalam *Laminar Air Flow* dalam keadaan miring kemudian tunggu hingga padat. Ambil bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan jarum ose kemudian digoreskan pada media secara zig zag, kemudian inkubasi dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 37°C. (Fadjria, N., dkk., 2023).

b. Pembuatan media pengujian

Nutrient Agar (NA) sebanyak 1,2 gram, masukkan dalam erlenmeyer, tambahkan aquadest hingga 60 ml lalu dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk sampai bening. Masukkan dalam 3 tabung reaksi yang telah dikalibrasi masing-masing 15 ml, tutup dengan kapas yang telah di balut dengan kasa dan sterilkan dalam autoklaf (Arfiandi, dkk., 2023).

c. Sterilasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dibungkus dengan kertas perkamen dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara dipijar sedangkan pinset di *flambier*. Karet penetes dan

tutup vial direndam dalam alcohol 70% (Arfiandi, dkk., 2023).

d. Pembuatan Reagen

1. Pembuatan H_2SO_4 1%

Pipet 1 ml H_2SO_4 97%, masukkan kedalam labu ukur 100 ml yang telah berisi air, lalu tambahkan aquadest sampai tanda batas.

2. Pembuatan $BaCl_2$ 1%

Larutkan 0,1 gram Barium Klorida dengan aquadest hingga 10 ml.

3. Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5

Larutan H_2SO_4 1% sebanyak 99,5 ml di campurkan dengan $BaCl_2$ 1% sebanyak 0,5 ml dalam labu ukur. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji. Untuk mengukur kekeruhan menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm (Anonim, 2001).

e. Pembuatan Suspensi Bakteri

Staphylococcus aureus

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah di remajakan, diambil menggunakan jarum ose dan suspensikan dalam 10 ml NaCl fisiologis di dalam vial sampai sesuai dengan larutan standar 0,5 Mc Farland (Arfiandi, dkk., 2023).

f. Uji Aktivitas Antibakteri

Metoda uji daya hambat dalam penelitian adalah metode difusi menggunakan cakram kertas, (Arfiandi, dkk., 2023). Siapkan 3 cawan petri untuk percobaan. Masing-masing cawan petri akan berisi 5 cakram kertas, yaitu kontrol positif (antibiotik gentamycin 1%), kontrol negatif (pelarut etil asetat), dan larutan uji dengan konsentrasi 40%, 60%, dan 80%. Selanjutnya, teteskan 10 tetes suspensi bakteri ke masing-masing cawan petri. Tambahkan 15 ml media yang masih cair ke setiap cawan petri, lalu putar ke kiri dan ke kanan sampai suspensi bakteri dan media tercampur homogen, dan biarkan setengah padat. Ini berlaku juga untuk kontrol positif, kontrol negatif, dan larutan uji. Setiap cawan petri akan terdiri dari ketiga jenis tersebut. Seluruh cawan petri kemudian diinkubasi dalam inkubator secara terbalik selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, ukur diameter daerah hambat yang ditunjukkan oleh adanya zona bening di sekitar cakram kertas, menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil pengukuran diameter daerah hambat yang diperoleh dalam penelitian ini seperti yang di tunjukkan dalam Tabel 1.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri daun sisik naga yang diperoleh dari wilayah Pasaman, Provinsi Sumatera Barat, terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian melibatkan proses maserasi selama 3x3 hari dengan menggunakan pelarut etil asetat. Etil asetat merupakan jenis pelarut semi-polar yang mampu mengekstraksi senyawa baik yang bersifat polar maupun non-polar yang terdapat dalam daun sisik naga (Harborne J B., 1987). Hasil ekstrak dihasilkan dalam tiga konsentrasi berbeda, yaitu 40%, 60%, dan 80%. Sebagai kontrol positif, digunakan Gentamycin dengan konsentrasi 1%.

Tabel 1. Respon Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Sisik Naga (*Pyrrhosia piloselloides* (L)) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Sampel	Diameter Daerah Bening (mm)	Respon Hambat
Konsentrasi 40%	14,05	Lemah
Konsentrasi 60%	15,49	lemah
Konsentrasi 80%	14,90	Lemah
Gentamycin	14,81	Lemah

Seperti yang telah diungkap dalam penelitian Yanti Sari pada tahun 2014, yang menggunakan etanol sebagai pelarut ekstraksi, hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun sisik naga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Aktivitas tersebut tetap terbukti saat pelarut yang berbeda digunakan dalam proses ekstraksi, dengan etil asetat sebagai pelarut semi-polar yang digunakan. Hal ini mengindikasikan bahwa zat-zat aktif dalam daun sisik naga, baik yang bersifat polar maupun semi-polar, mempunyai kemampuan antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Dari Tabel 1, terlihat bahwa tiga konsentrasi bahan uji yang disiapkan menunjukkan respons hambatan berturut-turut dengan ukuran 14,05 mm, 15,49 mm, dan 14,90 mm, sementara kontrol positif menunjukkan hambatan sebesar 14,81 mm. Khususnya, pada konsentrasi 60%, bahan uji memberikan hambatan yang lebih besar daripada kontrol positif pada konsentrasi 1%. Hal ini

menunjukkan bahwa konsentrasi uji 60% mengandung lebih banyak zat aktif yang memiliki sifat antibakteri. Menurut klasifikasi hambatan yang diusulkan oleh Davis dan Stout pada tahun 1971, semua konsentrasi uji, termasuk kontrol positif, termasuk dalam kategori lemah. Ukuran diameter zona hambatan pada kontrol positif menunjukkan aktivitas yang lemah, kemungkinan karena resistensi bakteri terhadap gentamicin (Humphries, R., dkk., 2021).

Cara kerja aminoglikosida dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan melewati membran bakteri gram-negatif melalui proses transpor aktif yang bergantung pada oksigen. Inilah mengapa Gentamicin tidak efektif pada bakteri anaerob (Chaves BJ dan Tadi P, 2023).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat disarikan bahwa ekstrak etil asetat dari daun sisik naga menunjukkan kemampuan antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, terutama pada konsentrasi 60% yang menunjukkan hambatan yang lebih efektif dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih yang tulus dan mendalam kepada Akademi Farmasi Dwi Farma atas dukungan pendanaan dan fasilitas yang diberikan untuk mendukung terwujudnya penelitian ini.

REFERENSI

- Anonim (2001). *McFarland Standards*. PML Microbiologicals Inc., Wilsonville, hal. 1-2
- Arfiandi, Fadjria, N., & Marjoni, R. (2023). *Teknik-Teknik Dasar Mikrobiologi*. Mitra ilmu
- Arif, M.Z., Nik Zainuddin, N.A.S., Zakaria, I.S., Wan Abdul Wahab, W.N.A. and Sul'ain, M.D., (2018). Phytochemical Screening and Toxicological Evaluation of *Pyrrosia piloselloides* Extracts. *International Medical Journal*. 25 (3): 177 - 180.
- Chaves BJ, Tadi P. Gentamicin. [Updated 2023 Apr 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan .Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557550/>
- Davis, w. W. And Stout, T.R. (1971). Disc Plate ,ethod of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22(4), 659-665

- Fadjria, N., Arfiandi, A., Nofita, D., & Fadhila, M. (2023). *Screening Phytochemicals and Antibacterial Activity of Microalgae Strain Scenedesmus sp. Auma-020*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(1), 46-51.
- Harborne J B. (1987). *Metode Fitokimia*. Bandung. Penerbit ITB.
- Herlina, N. DKK. (2015). *Isolasi dan identifikasi Staphylococcus aureus dari suatu matisi subklinis di Tasikmalaya, Jawa Barat*. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1 (3) : 413-417.
- Humphries, R., Bobenchik, A. M., Hindler, J. A., & Schuetz, A. N. (2021). Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100. *Journal of clinical microbiology*, 59(12), 10-1128.
- Le Loir Y, Boron F, Gautier M. (2013) *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning. *Laboratoire de Microbiologie. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, France*. <http://WWW.Funpcrp.Com/br/gmr/Introktion> For authors.
- Marjoni, M. R., Arfiandi, Z., & Nofani, R., (2017). The Analgesic Effect of Aqueous Extract of Sisik Naga Leaves (*Pyrrosia piloselloides* (L.) MG Price) on White Female Mice (*Mus musculus*).
- Rahmawati, R. (2014). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sisik naga (Drymoglossum piloselloides (L.) Presl) dan binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) terhadap bakteri Streptococcus mutans* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Untu, S. (2019). *Aktivitas Daun Picisan Drimoglossum Puloselloides (L.) Presl Terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans*. *Biofarmasetikal Tropis (The Tropical Journal of Biopharmaceutical)*, 2(2), 7-14.
- Yanti,S. (2014). *Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides (L.) Presl) terhadap Pertumbuhan Methicillin-Resistant Streptococcus aureus*. Fakultas kedokteran. Universitas Syiah Kuala.