

Efektivitas antibakteri ekstrak daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides*) terhadap bakteri *Methicillin*Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Eschericia coli*

Putri Nadia Indah Kurniasari¹, Roeswandono W², Freshinta Jellia Wibisono³, Ady Kurnianto⁴

¹²³⁴Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Email : atmajaros@uwks.ac.id

Received : 5 September 2022

Accepted : 10 Oktober 2022

Published : 1 November 2022

Abstract

The purpose of this research aimed to determine the antibacterial effectiveness of the methanolic extract of dragon scales leaves (*Drymoglossum piloselloides*) against MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) and *Eschericia coli* bacteria in vitro using the diffusion method. This research used a population of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Eschericia coli* bacteria. The sample to be used is dragon scale leaf methanol extract. The method in this research used experimentally with 6 treatments, namely dragon scale leaf methanol extract with concentrations of 45%, 55%, 65%, 75%, negative control (methanol) and positive control (chloramphenicol antibiotics). Data collection in this study was carried out by recording the diameter of the inhibition zone using a caliper (mm). The data obtained from the diameter of the inhibition zone of 75% extract variation resulted in an inhibition zone of 17.02 mm (in MRSA) and 8.47 mm (in *E.coli*). Chloramphenicol was found to be resistant to MRSA, but sensitive to *E.coli*. Data analysis used ANOVA test which statistically showed that there was a significant difference ($P<0.05$) in the diameter of the inhibition zone of the dragon scale leaf methanol extract against MRSA bacteria and there was a very significant difference ($P<0.01$) in the diameter Inhibition zone of dragon scale leaf methanol extract against *E. coli* bacteria.

Keywords: *Dragon scale leaf, inhibition zone diameter, Escherichia coli, Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang besar dengan menempati urutan ketiga terbesar di dunia setelah Brazil dan Zaire. Di Indonesia terdapat sejumlah 3.689 spesies tanaman obat namun hanya 283 spesies obat tradisional yang digunakan. Salah satu tumbuhan obat yang digunakan di Indonesia adalah tumbuhan epifit. Salah satu epifit yang digunakan sebagai obat yaitu paku sisik naga (*Drymoglossum piloselloides*) (Bali dan Wehantouw, 2014). Menurut Ren *et al.*, (2003) dalam Yuliasuti *et al.*, (2014) Daun sisik naga merupakan salah satu tanaman herbal yang mampu digunakan untuk pengobatan antikanker, antioksidan kuat, dan antiperadangan. Daun sisik naga juga berperan sebagai antibakteri karena mengandung minyak atsiri, sterol atau triterpen, flavonoid, fenol, tanin, dan gula (Haninah *et al.*, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Heriyati *et al* (2016) yaitu ekstrak daun sisik naga

memiliki efek toksisitas bakteristatis pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Senyawa antibakteri dapat bersifat bakteristatik dan bakteriosida. Toksisitas bersifat bakteristatik apabila efek yang ditimbulkan hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara terbatas. Toksisitas bersifat bakteriosida apabila efeknya secara total dapat membunuh bakteri. Penggunaan ekstrak daun sisik naga 0,5 - 2,5% dengan cara maserasi menggunakan metanol 96%, kemudian difraksinasi dengan etil asetat dapat memberikan efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat 9,08, 11,25 dan 13,16 mm untuk *S. epidermidis*, sedangkan pada *E. coli* dengan konsentrasi yang sama menghasilkan zona hambat 8,83, 10,08 dan 11,08 mm (Rahmawati, 2015). Berdasarkan pernyataan di atas, maka peneliti ingin melakukan penelitian mengenai Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides*) Terhadap

Bakteri *Methicilin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *E. coli*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan enam perlakuan. Keenam perlakuan pada penelitian ini yaitu : ekstrak metanol daun sisik naga dengan konsentrasi 45%, 55%, 65% dan 75%, kontrol negatif dengan pemberian metanol dan kontrol positif dengan pemberian antibiotik kloramfenikol 30 µg untuk menganalisa efektivitas antibakteri ekstrak metanol daun sisik naga terhadap bakteri biakan klinis *Methicilin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Eschericia coli*.

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 14 Juni 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Sample daun sisik naga diperoleh dari daerah Bondowoso, kemudian di ekstrak di Universitas Airlangga Surabaya dan uji Fitokimia dilakukan secara kuantitatif di Balai Penelitian Konsultasi Industri (BPKI).

Alat

Alat yang digunakan antara lain: ekstraksi maserasi, cawan petri, gelas ukur, batang pengaduk L, *beaker glass*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikropipet dan tip, bunsen, ose bulat, pinset, autoklaf, kain saring, jangka sorong, grinder, inkubator, timbangan analitik, botol maserat, *erlenmeyer flask*, *vortex mixer*, spuit 1 ml, dan *test tube*.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain: daun sisik naga, metanol 80%, aquades, NaCl 0,9%, *Mueller Hilton Agar (MHA)*, *Nutrient Agar (NA)*, isolate klinis *Methicilin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*, isolate klinis *Eschericia coli*, cakram disk kosong, lidi kapas steril, *standar 0,5 Mc Farland*, gloves, tissue, spirtus, sabun cuci piring, *sample tube*, kertas saring, masker, dan antibiotika cakram kloramfenikol 30 µg.

Ekstraksi

Tumbuhan sisik naga yang digunakan adalah daunnya saja, rantingnya di buang kemudian daun sisik naga di cuci hingga bersih. Setelah bersih daun sisik naga diletakkan di wadah tampah bambu beralaskan tissue dan di

angin - anginkan hingga kering tanpa terkena sinar matahari secara langsung serta diberi silica gel untuk menghindari timbulnya jamur. Daun sisik naga diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol dan dibuat dengan proses ekstraksi cara dingin, yaitu maserasi (Oktavia *et al.*, 2017).

Daun sisik naga yang sudah kering dihaluskan menggunakan grinder hingga menjadi simplisia kering. Daun sisik naga sebanyak 800 gram dimasukkan kedalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan pelarut metanol 96% sebanyak 3000 ml. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dan setiap 1 x 24 jam dilakukan pengadukan. Penyaringan dilakukan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Ulangi proses maserasi dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Remaserasi dilakukan sebanyak tiga kali sehingga diperoleh maserat daun sisik naga (Oktavia *et al.*, 2017). Maserat dimasukkan ke tabung evaporator kemudian dilakukan evaporasi pada suhu 50 - 60° C dengan kecepatan 45 rpm (Damayanti dan Fitriana, 2012).

Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental metanol daun sisik naga (Yanti *et al.*, 2013). Ekstrak yang diperoleh kemudian dibuat dalam konsentrasi 45%, 55%, 65% dan 75%. Pembuatan konsentrasi berdasarkan perhitungan di bawah ini (Saridewi dkk., 2017).

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan:

M1 = konsentrasi sebelum pengenceran

M2 = konsentrasi setelah pengenceran

V1 = volume sebelum pengenceran

V2 = volume setelah pengenceran

Masing - masing konsentrasi akan dijenuhkan ke dalam cakram dengan mengambil sebanyak 8 ml larutan ekstrak, diamkan selama 30 menit hingga meresap sempurna ke dalam cakram (Umarudin dan Yuliarni., 2019). Kontrol negatif menggunakan cakram yang dijenuhkan dengan 8 ml metanol dan kontrol positif menggunakan cakram antibiotik kloramfenikol 30µg.

Uji Fitokimia

Skrining fitokimia dari hasil ekstraksi akan dilakukan secara kuantitatif oleh BPKI.

Pengujian akan dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui kadar senyawa fitokimia (flavonoid, fenol, saponin, tanin, minyak atsiri, sterol atau triterpenoid) yang terdapat di daun sisik naga.

Isolate Bakteri

Pembiakan bakteri dilakukan dengan cara mencelupkan lidi kapas steril/*cotton swab* ke dalam isolat murni *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Escherichia coli*. Kemudian digoreskan pada permukaan Natrium Agar Plate. Pengerjaan dilakukan secara aseptis di dekat api bunsen. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam (Wijayati *et al.*, 2014)

Isolat bakteri MRSA dan *E. coli* yang sudah dilakukan peremajaan diambil dengan ose bulat yang sudah disterilkan menggunakan api bunsen dan disuspensikan dengan cara dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 2 mL larutan NaCl 0,9% hingga memperoleh konsentrasi 0,5 *McFarland* (Fazil dkk., 2017). Kekeruhan suspensi bakteri yang terbentuk dibaca dengan menggunakan *McFarland* densitometer.

Inokulasi bakteri pada MHA dilakukan dengan cara mencelupkan *cotton swab* steril ke dalam suspensi bakteri yang kekeruhannya telah mencapai standar 0,5 *McFarland*. Kemudian goreskan *cotton swab* steril yang berisi suspensi bakteri pada permukaan MHA dengan pola yang sesuai. Putar plate 60° sambil meratakan suspensi hingga tersebar pada seluruh permukaan MHA. Simpan di suhu ruangan selama 15 menit.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian daya hambat daun sisik naga terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan metode difusi cakram (Kirby-Bauer). Suspensi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diswab merata dengan menggunakan *cotton swab* steril pada permukaan medium MHA dan dibiarkan selama 15 menit. Setelah itu kertas cakram ukuran 6 mm direndam dengan masing - masing ekstrak daun sisik naga dengan berbagai konsentrasi, kontrol positif antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif larutan metanol 80% selama 30 menit - 1 jam. Dalam satu *plate* berukuran 90 mm diisi sebanyak 4 buah kertas cakram. Setiap *plate* akan diisi dengan cakram kontrol positif, kontrol negatif dan perlakuan. Kertas cakram

diambil menggunakan pinset lalu diletakkan pada permukaan media MHA, lalu ditekan - tekan untuk memastikan kertas cakram bersentuhan langsung dengan permukaan agar. Setiap *plate* diberi label sesuai dengan jenis perlakuan yang diberikan. Setelah itu *plate* diinkubasi dengan suhu 35°C. Hasil akan dilihat setelah 18 jam inkubasi.

Analisa Data

Diameter zona hambat yang terbentuk pada MHA kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong. Kemudian dianalisis menggunakan uji ANOVA.

HASIL

Pengujian fitokimia dilakukan secara kuantitatif pada ekstrak metanol daun sisik naga.

Tabel 1. Kandungan Fitokimia Daun Sisik Naga.

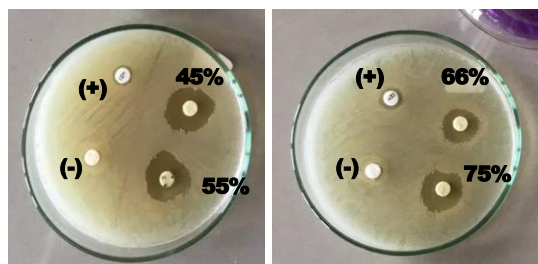
No.	Senyawa	Kandungan %
1	Flavonoid	3,18 %
2	Tanin	4,01 %
3	Sterol	0,88 %
4	Fenol/Polifenol	2,96 %
5	Saponin	2,56 %
6	Terpenoid/Minyak Atsiri	1,03 %

Dari tabel 1 diketahui bahwa kandungan zat aktif tertinggi dari ekstrak metanol daun sisik naga adalah tanin yaitu sebesar 4,01% diikuti dengan flavonoid sebesar 3,18%, fenol sebesar 2,96%, saponin 2,56%, terpenoid 1,03% dan kandungan zat aktif terendah adalah sterol sebesar 0,88%.

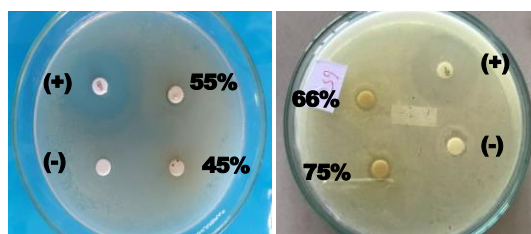
Keterangan Tabel 2 Nilai rerata yang diikuti dengan superskrip yang berbeda (a,b,c dan d) menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) pada bakteri MRSA dan menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata pada bakteri *Escherichia coli*.

Hasil uji Anova pada tabel 2 menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna dari ekstrak metanol daun sisik naga terhadap bakteri MRSA dengan nilai $P = 0.000$, sehingga pada penelitian ini H_0 ditolak dan H_1 diterima karena ekstrak daun sisik naga memiliki efektivitas terhadap bakteri MRSA.

Berdasarkan tabel 2, hasil analisis terhadap bakteri *E. coli* di atas menunjukkan rerata zona hambat yang terjadi bahwa nilai zona hambat terbesar terdapat pada K+ (Kloramfenikol 30µg) sehingga pada penelitian ini H0 ditolak dan H1 diterima karena ekstrak daun sisik naga memiliki efektifitas terhadap bakteri *E. coli*.



Gambar 1. Uji Zona Hambat Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*



Gambar 2. Uji Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli*

Keterangan:

(+): kontrol negatif metanol

(-) : kontrol positif kloramfenikol

45% : Ekstrak metanol daun sisik naga 45%

Tabel 2. Hasil Uji Zona Hambat Pada Bakteri MRSA Dan *Escherichia coli*

Bakteri	Perlakuan	Rerata ± SD (mm)
MRSA	K-	0.0000 ± 0.00000a
	K +	8.1775 ± 0.08261b
	45 %	8.7575 ± 1.57104b
	55 %	12.5550 ± 1.35974c
	65%	13.8200 ± 0.13491c
	75%	17.0250 ± 1.85947d
<i>Escherichia coli</i>	K-	0.0000 ± 0.00000a
	K +	26.4650 ± 0.36189b
	45 %	6.4075 ± 0.47141c
	55 %	7.5200 ± 0.31948d
	65%	7.9000 ± 0.20801d
	75%	8.4750 ± 0.17020e

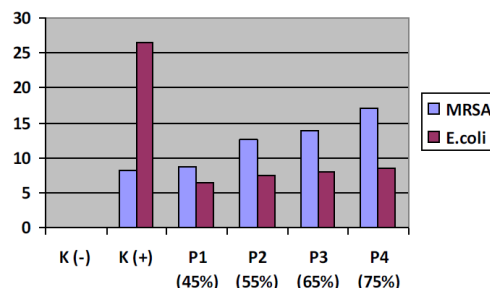
55% : Ekstrak metanol daun sisik naga 55%

45%: Ekstrak metanol daun sisik naga 45%

55% : Ekstrak metanol daun sisik naga 55%

65%: Ekstrak metanol daun sisik naga 65%

75% : Ekstrak metanol daun sisik naga 75%



Gambar 3. Diagram Zona Hambat Ekstrak Daun Sisik Naga

Pada gambar 3 dapat diketahui bahwa diameter zona hambat ekstrak metanol daun sisik naga terhadap bakteri MRSA seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat yang terbentuk juga semakin luas. Kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat. Diameter zona hambat MRSA bertambah luas sebesar 8,17 mm pada kontrol positif sampai pada P4 diameter zona hambatnya sebesar 17,02 mm. Diameter zona hambat ekstrak metanol daun sisik naga pada bakteri *E.coli* seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat yang terbentuk juga semakin luas hal ini ditunjukkan dengan lebar zona hambat sebesar 6,40 mm pada P1 sampai P4 yaitu sebesar 8,47 mm. Kontrol positif kloramfenikol pada bakteri *E.coli* membentuk diameter sebesar 26,46 mm, berdasarkan CLSI (2020) termasuk dalam kategori sensitif (ukuran diameter zona hambat ≥ 18), sedangkan pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat.

PEMBAHASAN

Uji fitokimia daun sisik naga memiliki kandungan senyawa methan, flavonoid, fenol, saponin, minyak atsiri dan sterol. Kandungan zat aktif tertinggi dari ekstrak methanol daun sisik naga adalah tanin yaitu sebesar 4,01% diikuti dengan flavonoid sebesar 3,18%, fenol sebesar 2,96%, saponin 2,56%, terpenoid 1,03% dan kandungan zat aktif terendah adalah sterol

sebesar 0,88%. Kandungan tersebut memiliki mekanisme kerja antibakteri yang berbeda. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Arif *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa hasil uji fitokimia dari ekstrak daun sisik naga terdapat senyawa fenol, flavonoid, tanin, saponin dan sterol.

Diameter zona hambat rata rata yang terbentuk oleh ekstrak metanol daun sisik naga terhadap bakteri MRSA dan bakteri *E. coli* terbentuk akan semakin luas seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang digunakan. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Pratiwi (2015). Diameter zona hambat yang terbentuk dikarenakan adanya zat aktif dan mekanisme kerja zat tersebut yang terkandung di dalam ekstrak daun sisik naga.

Flavonoid merupakan golongan dari senyawa fenol yang mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur (Haninah *et al.*, 2014). Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri (Sagita *et al.*, 2017). Mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler maupun terlarut serta dapat pula membentuk kompleks dengan dinding sel sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Heriyati *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Manimozhi *et al.*, (2012) membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi flavonoid dalam suatu ekstrak maka akan semakin baik kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Yohanes *et al* 2018, tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak komponen membran sel, dinding sel, enzim, materi genetik, maupun komponen berprotein lainnya. Tanin memiliki efek antibakteri dengan cara mengikat dinding sel mikroba dan mengganggu pembentukan

yang dapat menyebabkan kerusakan pada dinding sel. Sifat antibakteri tanin tergantung pada berat molekul dan konsentrasi tanin yang digunakan. Tanin dengan berat molekul rendah memiliki aktivitas yang lebih baik daripada tanin dengan berat molekul yang lebih besar tetapi semakin tinggi konsentrasi tanin yang digunakan maka semakin besar diameter zona hambat bakteri yang terbentuk (Yohanes *et al.*, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh (Maisak *et al.*, 2013) menyatakan bahwa tanin lebih efektif pada bakteri Gram positif dibandingkan Gram negatif. Hal ini juga yang mempengaruhi diameter zona hambat ekstrak metanol daun sisik naga yang terbentuk oleh bakteri MRSA lebih besar dibandingkan dengan bakteri *E. coli*.

Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri pada konsentrasi rendah adalah dengan merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel. Sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid di sekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel (Haninah *et al.*, 2014). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Bouarab-Chibane *et al.*, 2019 aktivitas antibakteri dari fenolik lebih baik terhadap Gram positif daripada Gram negatif. Meski demikian fenolik mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* meskipun kurang efektif.

Mekanisme saponin sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membrane sel. Struktur yang berperan sebagai antibakteri adalah aglikon yang masuk ke dalam lapisan lipid bilayer bakteri. Saponin dengan konsentrasi tinggi mampu melisiskan membran sel, sementara saponin dengan konsentrasi rendah hanya mampu berinteraksi dengan membran sel tetapi tidak sampai melisiskan sel (Yohanes *et al.*, 2018).

Terpenoid atau minyak atsiri yang bersifat lipofilik memiliki aktivitas antibakteri dengan cara bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Heriyati *et al.*, (2016), bahwa ekstrak daun sisik naga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Menurut Arif *et al.*, (2018), sterol berfungsi dalam menjaga stabilitas dan permeabilitas membran sel. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol daun sisik naga terhadap bakteri MRSA dan *Escherichia coli* menandakan bahwa senyawa fitokimia yang terdapat di dalam ekstrak daun sisik naga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Haninah *et al* 2014, yang menyatakan bahwa masing - masing kandungan senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak daun sisik naga yaitu flavonoid, tanin, sterol, fenol, saponin dan terpenoid memiliki mekanisme kerja zat antibakteri yang berbeda - beda.

Penelitian ini digunakan cakram yang berukuran diameter 6 mm. Pada perlakuan kontrol negatif tidak membentuk zona hambat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kontrol negatif tidak menghambat bakteri uji. Selain menjadi kontrol negatif, metanol juga digunakan sebagai pengencer konsentrasi ekstrak. Apabila meninjau dari hasil uji difusi, pelarut tidak ikut menghambat bakteri. Sehingga zona hambat yang terbentuk pada cakram variasi konsentrasi ekstrak tidak dipengaruhi oleh pelarut. Hal tersebut sesuai dengan Penelitian Aprilia *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut yang digunakan

untuk membuat seri konsentrasi ekstrak yaitu metanol, dengan tujuan sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer konsentrasi ekstrak tidak mempengaruhi hasil uji ekstrak. Hasil zona hambat kontrol negatif terhadap bakteri uji adalah 0.00 mm sehingga dapat disimpulkan metanol tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri dari ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nopiyanti *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa metanol sebagai kontrol negatif dimana tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan baik terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Eschericia coli*, dan *Stapylococcus aureus*.

Kepekaan suatu senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dan *Eschericia colidievaluasi* berdasarkan kriteria *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), yaitu S (sensitive), I (Intermediate), dan R (resistant). Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik kloramfenikol 30µg. Pemilihan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan antibiotik yang mempunyai spektrum kerja luas dan mekanisme kerjanya menghambat sintesis dinding sel bakteri (Sinurat *et al.*, 2019).

Diameter zona hambat minimal pada bakteri MRSA dan *E. coli* yang harus dicapai oleh suatu senyawa agar dikatakan sensitif adalah ≥ 18 mm (CLSI, 2020).

Rerata diameter zona hambat yang dapat dibentuk oleh kloramfenikol dalam melawan bakteri MRSA adalah 8.17 mm yang termasuk dalam kategori resistan. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi senyawa aktif pada ekstrak metanol daun sisik naga dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA tetapi belum dapat memenuhi standar sensitif menurut (CLSI, 2020) terhadap bakteri MRSA. Rerata diameter zona hambat yang dapat dibentuk oleh kloramfenikol dalam melawan bakteri *Eschericia coli* adalah 26.46 mm yang

termasuk dalam kategori sensitif. Hal ini menunjukkan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun sisik naga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan memenuhi standar sensitif (CLSI, 2020) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Terbentuknya zona hambat terhadap bakteri MRSA menunjukkan adanya potensi ekstrak daun sisik naga dalam membunuh bakteri. Kloramfenikol pada penelitian ini ditemukan resisten terhadap bakteri uji MRSA. Temuan tersebut sesuai dengan studi terdahulu yang menemukan bahwa MRSA klinis kebal terhadap kloramfenikol di India, Cina, Iran, dan Nepal (Fayyaz *et al.*, 2014). Berbeda dengan studi yang dilakukan di Eropa, isolat klinis MRSA masih sensitif terhadap kloramfenikol di Yunani dan UK, bahkan Asia seperti Jepang dan Korea (Fayyaz *et al.*, 2014). Sedangkan pada bakteri uji *Escherichia coli*, kloramfenikol terbukti sensitif. Studi lain di Ethiopia Utara menunjukkan bahwa *Escherichia coli* rentan dengan kloramfenikol hingga 63,2%. Data tersebut membuktikan bahwa pada studi tersebut sebagian bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi mengalami kekebalan terhadap kloramfenikol (Kibret and Bayeh, 2011). Sedangkan di Romania, kloramfenikol diidentifikasi sensitif terhadap *Escherichia coli* hingga 72% (Cambrea, 2014).

Menurut standar yang dibuat oleh Suryawiria (1978); Zahro dan Rudiana, 2013) mengenai klasifikasi aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yang dapat diklasifikasikan sebagai berikut: lemah (< 5 mm), sedang (5 - 10 mm), kuat (10 - 20 mm) dan sangat kuat (> 20 mm).

Rerata diameter zona hambat yang dibentuk oleh variasi ekstrak daun sisik naga dalam menghambat bakteri MRSA dengan konsentrasi 55% (P2 = 12,55 mm), 65 % (P3 = 13,8 mm) dan 75% P4 = 17,02 mm) yang termasuk dalam katagori kuat dan ekstrak sisik naga dengan konsentrasi 45% (P1 = 8,75 mm) termasuk dalam

kategori sedang. Rerata diameter zona hambat yang terbentuk oleh penggunaan ekstrak daun sisik naga dalam menghambat bakteri *E. coli*, menggunakan konsentrasi ekstrak daun sisik naga 45% (P1 = 6,408 mm), 55% (P2 = 7,52 mm), 65 % (P3 = 7,9 mm) dan 75% P4 = 8,47 mm) yang termasuk dalam katagori sedang. Hasil pengujian antibakteri oleh variasi konsentrasi ekstrak daun sisik naga dalam menghambat pertumbuhan MRSA dan *E.coli* memiliki nilai tertinggi pada konsentrasi 75% dengan rerata sebesar 17,02 mm dan 8,47 mm. Aktivitas antibakteri ekstrak daun sisik naga berbanding lurus dengan konsentrasi yang digunakan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Khastini dan Setiyowati (2013), dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak tanaman obat, maka akan semakin besar pula kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga semakin besar. Sehingga pada penelitian ini daun sisik naga berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif resisten (MRSA) dan Gram negatif (*Escherichia coli*). Pada penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (2015) diameter zona hambat yang terbentuk oleh fraksi metanol daun sisik naga terhadap bakteri *E. coli* konsentrasi 2,5% menghasilkan diameter zona hambat rata - rata 14,16 mm dan pada penelitian ini diameter zona hambat yang dihasilkan lebih besar, hal ini terjadi karena pada penelitian Pratiwi (2015) menggunakan fraksi metanol daun sisik naga, tetapi dengan menggunakan ekstrak metanol daun sisik naga juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif, yaitu *Escheria coli*.

Menurut standar yang dibuat oleh Suryawiria (1978); Zahro dan Rudiana, 2013) mengenai klasifikasi aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambat, maka nilai yang didapatkan pada penelitian ini termasuk dalam kategori kuat untuk melawan bakteri MRSA, sedangkan pada bakteri *E.coli* efektivitas antibakteri yang didapatkan dalam penelitian ini

termasuk dalam kategori sedang (Zahro dan Rudiana, 2013). Perbedaan zona hambat yang terjadi pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* disebabkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua bakteri yang mempengaruhi kerja ekstrak daun sisik naga sebagai senyawa bakteri. Artinya ekstrak daun sisik naga baru dapat menimbulkan efek jika ekstrak tersebut dapat masuk ke dalam sel bakteri yang diuji. Struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana, yaitu berlapis tunggal dengan kandungan lipid yang rendah sehingga memudahkan bahan bioaktif masuk ke dalam sel (Salni *et al.*, 2011). *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif memiliki 3 lapisan yaitu selaput sitoplasma, lapisan peptidoglikan yang tebal. Sementara struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks, berlapis tiga, yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah liposakarida yang berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif antibakteri, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan dengan kandungan lipid tinggi (Salni *et al.*, 2011). *Escherichia coli* sebagai gram negatif memiliki lapisan yang lebih kompleks dan berlapis - lapis yaitu selaput sitoplasma, lapisan tunggal peptidoglikan dan selaput luar yang terdiri dari lipoprotein dan lipopolisakarida. Adanya perbedaan struktur dan komponen dinding sel tersebut yang menyebabkan *Escherichia coli* sebagai gram negatif lebih tidak efektif sebagai antibakteri apabila dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* (Rahman *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Haninah *et al* (2014) Daun sisik naga bersifat antibakteri yang didapat dari senyawa flavonoid, fenol, tanin, minyak atsiri, sterol atau triterpenoid. Kandungan senyawa pada ekstrak daun sisik naga dapat merusak sistem sintesa protein, kerusakan dinding sel yang menyebabkan lisis sehingga terjadi kerusakan dinding sel yang dapat mengganggu mekanisme sintesis dinding sel bakteri. Pertumbuhan bakteri

yang terhambat atau kematian bakteri akibat adanya penghambatan terhadap sintesis protein oleh senyawa - senyawa bioaktif. Ketahanan bakteri gram negatif dan gram positif terhadap senyawa antibakteri berbeda - beda. Perbedaan kepekaan bakteri gram negatif dan gram positif berkaitan dengan struktur dalam dinding sel, seperti jumlah peptidoglikan (adanya reseptor, pori - pori dan lipid), sifat ikatan silang dan aktivitas enzim autolitik. Komponen tersebut merupakan faktor yang menentukan penetrasi, pengikatan dan aktivitas senyawa antimikroba. Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, terjadinya permeabilitas membrane sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, denaturasi protein sel dan perusakan sistem metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler (Azis, 2019).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak metanol daun sisik naga adalah flavonoid, tanin, sterol, fenol, saponin dan terpenoid.

REFERENSI

- Aprilia N.M, Widayat W dan Ramadhan A.M., 2017. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Akar Tumbuhan Merung (Coptosapelta flavescens Korth.) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans*. Proceeding of the 6 th mulawarman Pharmaceuticals conferences. Universitas Mulawarman Samarinda. 146 - 149.
- 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.

- Azis. 2019. *Analisis In Vitro Aktivitas Antibakteri Daun Sisik Naga (Drymoglossum Piloselloides) Terhadap Bakteri Vibrio Harveyi dan Vibrio Parahaemolyticus*. Journal of Aquaculture and Fish Health. 8 (2): 87 – 90.
- Bali, F.A dan Wehantouw, F., 2014. *Toksisitas dan Karakterisasi Gusus Fungsi Daun Sisik Naga (Drymoglossum pilosellides (L) Presl.)*. Pharmacon. 3 (3): 335 -341.
- Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lantéri, P., Clément, Y., Léonard-Akkari, L., Oulahal, N., Degraeve, P. and Bordes, C., 2019. *Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization And QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) Models*. Frontiers in Microbiology. 10 (829) : 1 - 23.
- Cambrea, S.C., 2014. *Antibiotic Susceptibility of Escherichia coli Strains Isolated in a Pediatric Population from South Eastern Romania*. Journal of Pediatric Infectious Diseases. 9 (3): 157 - 162.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) .2020. *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 24th edition*. Wayne, USA. 30 - 60.
- Damayanti, A dan Fitriana, E. A., 2012. *Pemungutan Minyak Atsiri Mawar (Rose Oil) Dengan Metode Maserasi*. Jurnal Bahan Alam Terbarukan. 1 (2): 1 - 8.
- Fayyaz, M., Mirza, I.A., Ahmed, Z., Abbasi, S.A., Hussain, A. and Ali, S., 2014. *In Vitro Susceptibility of Chloramphenicol Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan. 23 (9): 637 - 640.
- Fazil, M., Suci, R.N., Allfiah, F., Alam, D.N., Angelia, G., Situmeang, B., Kimia, P.S., Tinggi, S. dan Kimia, A., 2017. *Analisis Senyawa Alkaloid Dan Flavonoid Dari Ekstrak Kitolod (Isotoma Longiflora) Dan Uji Uji Aktivitasnya Terhadap Bakteri Penyebab Karies Gigi*. Jurnal Itekimia. 2 (1): 73 - 83.
- Haninah, Lestari, P. E. dan Wahyukundari, M. A., 2014. *Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides [L.] Presl.) terhadap Streptococcus viridans*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Jember. 1 - 6.
- Heriyati, Khotimah, S. dan Wardoy, E.R.P., 2016. *Aktivitas Antibakteri Fraksi Diklorometan dan N-Heksana Paku Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides (L) Presl.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi*. Jurnal Protobiont. 5 (3) : 82-88.
- Khastini, R. O. dan Setiyowati V., 2013. *Uji Aktivitas Ekstrak Air Daun Fertil dan Steril Sisik Naga terhadap Enteropatogenik E. coli*. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung. 237 - 242.
- Kibret, M. and Bayeh A., 2011. *Antimicrobial Susceptibility Patterns of E. coli from Clinical Sources in Northeast Ethiopia*. Health Sci. 11 (1): S40 - S45.
- Maisak, H., Jantrakajorn, S., Lukkana, M. and Wongtavatchai, J., 2013. *Antibacterial Activity Of Tannin From Sweet Chestnut Wood Against Aeromonas And Streptococcal Pathogens Of Tilapia (Oreochromis Niloticus)*. Thai Journal of Veterinary Medicine. 43 (1): 105 - 111.
- Manimozhi DM, Sankaranarayanan S, Sampathkumar G., 2012. *Evaluating The Antibacterial Activity Of Flavonoids Extracted From Ficus Benghalensis*. International Journal of Pharmaceutical and Biological Research (IJPBR). 3 (1).
- Oktavia, S., Arifin, H. dan Duarte, E., 2017. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (Pyrrosia Piloselloides (L.) M. G Price) Terhadap Waktu Pendarahan, Waktu Pembekuan Darah Dan Jumlah Trombosit Mencit Putih Jantan)* Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (Pyrrosia Piloselloides (L.) M. G Price) Terhadap Waktu Pendarahan, Waktu Pembekuan Darah Dan Jumlah Trombosit Mencit Putih Jantan. Jurnal Farmasi Higea. 9 (1): 49 – 53.
- Pratiwi S. J., 2015. *Aktivitas Antibakteri Fraksi Metanol Herba Sisik Naga (Drymoglossumpiloselloides [L.] Presl.) Terhadap Bakteri Escherichia coli dan*

- Staphylococcus epidermidis*. [Skripsi]. Program Studi Farmasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. 6 - 10.
- Rahman, D.T, Sutrisna E. dan Candrasari, A., 2012. *Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Dan Kloroform Meniran (Phyllanthus niruri Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 6538 dan Escherichia coli ATCC 11229 Secara In vitro*. Biomedika. 4 (2): 18 – 25.
- Rahmawati, T., 2015. *Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Herba Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides [L.] Presl.) Terhadap Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Epidermidis*. [Skripsi] Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura Pontianak. 11 - 13.
- Sagita, D., Ichwani, M.N. dan Linuria L., 2017. *Skrining aktifitas antibakteri dari ekstrak Sisik Naga (Pyrrosia piloselloides (L) M.G.Price)*. Riset Informasi Kesehatan. 6 (2): 115 - 116.
- Salni, Marisa, H., Mukti, R. W., 2011. *Isolasi Senyawa Antibakteri dari Daun Jengkol (Pithecolobium lobatum Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya*. Jurnal Penelitian Sains. 14 (1): 39 – 41
- Saridewi M. N , Bahar M dan Anisah., 2017. *Uji Efektivitas Antibakteri Perasan Jus Buah Nanas (Ananas comosus) Terhadap Pertumbuhan Isolat Bakteri Plak Gigi di Puskesmas Kecamatan Tanah Abang Periode April 2017*. Biogenesis. 5 (2): 104 - 110
- Sinurat A.A.P, Renta P.P, Herliany N.E, Negara B.FS dan Purnama D., 2019. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumpun Laut Gracilaria edulis Terhadap Bakteri Aeromonas hydrophila*. Jurnal Enggano. 4 (1): 105 - 111.
- Umarudin dan Yuliarni F. F., 2019. *Uji Antimikroba Daging Buah (Carica pubescens) Matang Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Metode Kirby Bauer Secara In Vitro*. Simbiosis 8 (2): 148 - 157.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C. dan Mulyati, S., 2014. *Transformasi A-Pinena Dengan Bakteri Pseudomonas Aeruginosa ATCC 25923*. Journal of Biology & Biology Education. 6 (1): 24 - 28.
- Yanti, L., Brasiska, Y. R. dan Hanafiah, A., 2013. *Antihiperlikemia Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga Dengan Metode Toleransi Glukosa*. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2 (1): 51 - 60.
- Yohanes, Khotimah, S. and Ilmiawan, M.I., 2018. *Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Paku Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides L.) Terhadap Streptococcus Pyogenes*. Fakultas Kedokteran, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tanjungpura. 1 – 26.
- Yuliastuti, Rahayu, R. dan Efrizal. 2014. *Efek Toksisitas Akut Ekstrak Daun Paku Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides (L.) Presl) Terhadap Nilai Darah Mencit Putih (Mus Musculus L.)*. Jurnal Biologi. Universitas Andalas. 3 (4): 332 – 336.
- Zahro, L. dan Agustini, R., 2013. *Uji Efektifitas Antibiotik Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih Terhadap Staphylococcus Aureus And Escherichia Coli*. UNESA Journal of Chemistry. 2 (3): 67 - 81.