

## Anti-Bacterial Activity Of N-Hexane Extract Of Malacca Leave (*Phyllanthus emblica*) On Mice (*Mus musculus*) Inoculated By *Staphylococcus epidermidis* In Vivo

Nada Sarah Syahputri<sup>1</sup>, \*Nuzul Asmilia<sup>2</sup>, Rinidar<sup>3</sup>, Amalia Sutriana<sup>3</sup>, Fakhrurrazi<sup>4</sup>, Ginta Riady<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>3</sup>Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>4</sup>Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>5</sup>Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

\*Alamat Korespondensi: [nuzulasmilia@unsyiah.ac.id](mailto:nuzulasmilia@unsyiah.ac.id)

### ABSTRACT

*Malacca plant (Phyllanthus emblica) is one of the medicinal plants. The purpose of this study was to determine the effect of n-hexane extract of Malacca (Phyllanthus emblica) leaves on the growth of Staphylococcus epidermidis bacteria in vivo. All mice were first induced by Staphylococcus epidermidis bacteria. Negative control (K1) was given aquadest, positive control (K2) was given ciproflaxacin suspension at doses of 20 mg/kg BW, while K3, K4, and K5 were given n-hexane extract of Malacca leave at dose of 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW, and 300 mg/kg BW. Respectively blood sampling was carried out on the 5th day after treatment. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA). The results showed that the mean ( $\pm$  SD) number of bacterial colonies in K1 was  $656 \times 10^2$  cfu/ml. The average number of bacterial colonies in K2 was  $2328 \times 10^2$  cfu/ml. The average number of bacterial colonies given n-hexane extract of malacca leave 100 mg/kg BW on K3 was  $359,60 \times 10^2$  cfu/ml. The average number of bacterial colonies given n-hexane extract of malacca leave 200 mg/kg BW at K4 was  $200 \times 10^2$  cfu/ml and the average number of bacterial colonies given n-hexane extract of malacca leave 300 mg/kg BW at K5 was  $3483 \times 10^2$  cfu/ml. The results showed there were no significant difference among treatment groups ( $P > 0.05$ ). N-hexane extract of malacca leave was unable to inhibit the growth of Staphylococcus epidermidis bacteria in vivo.*

**Keywords:** *Staphylococcus epidermidis, Malacca n-hexane extract, antibacterial.*

### PENDAHULUAN

#### Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara dengan kekayaan alam yang melimpah. Hampir segala jenis tumbuhan dapat tumbuh di negara ini. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa Indonesia memiliki lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat, namun baru 1.000 jenis saja yang sudah didata, dan sekitar 300 jenis sudah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional. Tumbuhan memiliki khasiat yang berbeda-beda, sehingga perlu dilakukan penelitian dari bahan alam sebagai sumber obat-obatan (Ningrum *et al.*, 2016). Tanaman malaka (*Phyllanthus emblica*) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat.

Tanaman malaka kaya akan vitamin C, mineral, dan asam amino. Menurut Dhale (2012), buah, daun, dan akar tanaman malaka (*Phyllanthus emblica*) mengandung senyawa polifenol (tanin), dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat antibakteri.

Beberapa penelitian sebelumnya telah menggunakan ekstrak *Phyllanthus emblica* untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Singh dan Sarika (2011) menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Phyllanthus emblica* dapat menghambat bakteri *Klebsiella pneumonia* dengan luas zona hambat 17 mm, *Micrococcus luteus* dengan luas zona hambat 26 mm, dan *Staphylococcus aureus* dengan luas zona hambat 20 mm. Dhale dan Mogle (2011) menyatakan ekstrak daun

malaka dengan konsentrasi 10 mg dan 20 mg yang di lakukan secara *in vitro* memiliki aktivitas antibakteri yang nyata terhadap beberapa bakteri yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*.

Penelitian Nurmahani membuktikan bahwa ekstrak n-heksan, kloroform dan etanol kulit buah naga merah memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri Gram positif dan Gram negatif (Nurmahani, 2012). Beberapa senyawa pada fraksi n-heksan yang diduga memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan hasil skrining fitokimia adalah alkaloid, steroid dan triterpenoid (Amalia *et al.*, 2014). Berdasarkan penjelasan di atas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji antimikroba ekstrak n-heksan daun malaka (*Phyllanthus emblica*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* secara *in vivo*.

## MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

### Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun yang telah tumbuh sempurna diambil dari pohon malaka di kawasan Aceh Besar. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus epidermidis* berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala.

### Metode Penelitian

#### Pembuatan Ekstrak N-Heksan Daun Malaka (*Phyllanthus emblica*)

Ekstraksi n-heksan daun malaka (*Phyllanthus emblica*) dilakukan dengan metode maserasi. Daun malaka (*Phyllanthus emblica*) yang telah dikumpulkan, dibersihkan dengan air mengalir, ditiriskan, dipisahkan dari tulang daun. Daun malaka (*Phyllanthus emblica*) kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

Daun malaka (*Phyllanthus emblica*) yang sudah kering diblender sampai halus.

Serbuk daun malaka (*Phyllanthus emblica*) dimaserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan. Larutan hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring yang menghasilkan filtrat dan ampas. Filtrat yang diperoleh, dikumpulkan, dan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* yang dilengkapi pemanas air dan pompa vakum sampai semua pelarut menguap dan terpisah dengan ekstrak n-heksan daun malaka (*Phyllanthus emblica*). Hasil ekstrak yang dihasilkan ditimbang dan disimpan di dalam wadah gelas tertutup.

### Persiapan Bakteri

Koloni yang terpisah dari bakteri *Staphylococcus epidermidis* dalam media NA (*Nutrient Agar*) diambil menggunakan ose, lalu ditanam pada media NB (*Nutrient Broth*), diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian distandarkan sesuai dengan standar Mc.Farland'1.

### Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan tujuan untuk membunuh semua bentuk organisme termasuk sporanya (Rosilawati *et al.*, 2010). Semua alat yang terbuat dari bahan kaca dicuci terlebih dahulu hingga bersih lalu dikeringkan. Setelah itu dibungkus dengan menggunakan kertas, lalu dimasukkan ke dalam sterilisator dan diinkubasi dengan suhu 170°C selama ±1 jam (sterilisasi kering). Alat-alat yang tidak tahan terhadap panas disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kawat ose dan pinset disterilkan dengan cara dipijarkan menggunakan lampu spiritus.

### Uji Antimikroba N-Heksan Daun Malaka

Hewan coba dikelompokkan secara

acak masing-masing dibagi dalam 5 kelompok, tiap kelompok terdiri dari lima ekor mencit yaitu kelompok kontrol negatif diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan diberi akuades 1 ml, kontrol positif diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan diberi *ciproflaxacin* 20 mg/kg bb, dan kelompok uji diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan diberi ekstrak n-heksan daun malaka dalam akuades dengan dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb, 300 mg/kg bb selama 4 hari. Mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 1 jam.

Tiap 1x24 jam diambil darah semua hewan coba melalui vena ekor sebanyak 50 µl dan diletakkan didalam tabung Eppendorf kemudian ditambah dengan 450 µl NaCl fisiologis 0,9% dan dilakukan penanaman pada media MSA dengan cara *pour plate*. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* akan membentuk koloni berwarna cream namun tidak mengubah warna media MSA (Karimela *et al.*, 2018). Hasil inkubasi tersebut dihitung jumlah koloninya dengan menggunakan alat *colony counter*.

### Parameter Penelitian

Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah jumlah koloni bakteri dalam darah mencit dan persen penurunannya.

### Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis dengan analisis dengan uji ANOVA

( $p < 0,05$ ), jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc* (LSD) untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok uji dengan kelompok kontrol.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan metode maserasi yang menggunakan pelarut n-heksan. Metode maserasi dipilih karena dapat mengekstraksi senyawa aktif dari tanaman dengan baik melalui perendaman tanpa pemanasan sehingga dapat menghindari kerusakan senyawa yang labil dan tidak tahan panas (Dean, 2009).

Sistem perendaman dalam metode maserasi akan menyebabkan pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif yang terdapat dalam sel tanaman tersebut akan larut dalam pelarut (Khoiriyah, 2014). Hasil ekstraksi dari ekstrak berbentuk pasta dengan aroma yang khas. Ekstrak dengan pelarut n-heksan menunjukkan warna hijau kecoklatan.

### Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Malaka terhadap *Staphylococcus epidermidis*

Hasil perhitungan koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada mencit yang diberi ekstrak n-heksan daun malaka (*Phyllanthus emblica*) dengan dosis berbeda setelah diinokulasikan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dari 5 kelompok perlakuan dapat di lihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada mencit yang diberi ekstrak n-heksan daun malaka (*Phyllanthus emblica*) cfu/ml.

Jumlah Rata- Rata (x) ± (SD)				
K1	K2	K3	K4	K5
656 x 10 <sup>2</sup> ± 116,84	2328 x 10 <sup>2</sup> ± 4401,75	359,60 x 10 <sup>2</sup> ± 54,59	200 x 10 <sup>2</sup> ± 145,90	3483 x 10 <sup>2</sup> ± 5296,09

**Keterangan:** **K1** = Kelompok kontrol negatif yang diberikan aquadest; **K2** = Kelompok kontrol positif yang diberikan ciprofloxacin 20 mg/kgbb; **K3** = Kelompok yang diberikan ekstrak n-heksan daun malaka 100 mg/kgbb; **K4** = Kelompok yang diberikan ekstrak n-heksan daun malaka 200 mg/kgbb; **K5** = Kelompok yang diberikan ekstrak n-heksan daun malaka 300 mg/kgbb.

Berdasarkan hasil pada Tabel bahwa uji statistik ANOVA data yang dihasilkan pada setiap kelompok K1, K2, dan K3, K4, dan K5 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ( $P > 0.05$ ). Pada kontrol negatif tidak menunjukkan penurunan jumlah koloni dikarenakan mengindikasikan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak berpengaruh pada uji bioaktivitas antibakteri sampel, sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa aktif yang terdapat pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* itu sendiri.

Pada kelompok K2 sebagai kontrol positif yang diberikan ciprofloksasin menunjukkan nilai yang sangat tinggi yaitu  $2328 \times 10^2$  cfu/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sreedharan *et al.* (1991) yang menunjukkan bahwa terjadi resistensi ciprofloxacin pada *S.epidermidis* dan *S. aureus* umumnya dikaitkan dengan mutasi dari residu serine 84 yang dilestarikan dalam girase Aprotein. Kemungkinan terjadinya resistensi bakteri disebabkan antibiotik ciprofloksasin dapat terikat pada subunit  $\beta$ -enzim DNA gyrase dan memblok aktivitas enzim yang esensial dalam menjaga supercoiling dan replikasi DNA. Mutasi pada gen pengkode DNA gyrase menyebabkan diproduksinya enzim yang aktif namun tidak dapat diikat oleh fluoroquinolon sehingga menyebabkan terjadinya resistensi pada bakteri (Waluyo, 2004).

Pada kelompok uji K3, K4 dan K5 terlihat nilai yang lebih rendah dari kelompok K2 walaupun secara ANAVA tidak menunjukkan signifikan yang menyebabkan hasil tidak berbeda nyata. Penelitian yang dilakukan oleh Opa *et al.* (2018) menunjukkan pada pelarut n-

heksana tidak memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan keempat bakteri uji yaitu bakteri *S. saprophyticus*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. Hal ini dikarenakan pelarut n-heksana tidak menunjukkan zona hambat pada keempat media bakteri. Nuria *et al.* (2014) juga menggunakan pelarut n-heksana dan juga mendapatkan nilai hambat yang rendah pada uji bakteri *E.Coli*. Hal ini dikarenakan pelarut n-heksana adalah pelarut non polar yang dapat merusak jaringan daun sehingga dapat terbuka dan senyawa metabolit sekunder pada daun dapat terekstrak. Pelarut n-heksana dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap. Sehingga fraksi n-heksana akan mengisolasi golongan senyawa yang bersifat non polar sedangkan golongan senyawa yang bersifat polar dan semi polar terdapat pada ekstrak metanol (Putri *et al.*, 2015).

## KESIMPULAN

Ekstrak n-heksan daun malaka belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara in vivo.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, S., Wahdaningsih, S. and Untari, E.K. (2014). Antibacterial activity testing of n-Hexane fraction of red dragon (*Hylocereus polyrhizus* Britton and Rose) fruit peel on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Traditional Medicine Journal*, 19(2): 89-94.
- Dean, J. (2009). *Extraction Techniques In Analytical Science*. John Wiley and Sons LTD: London.
- Dhale, D.A. (2012). Pharmacognostic evaluation of *Phyllanthus emblica* Linn (Euphorbiaceae). *International Journal Pharmacy*, 3(3): 210-217.
- Dhale, D.A. and Mogle, U.P. (2011). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Phyllanthus emblica* L. *Natural Product Research*, 22(1): 91-95.

- Hidayah, N., Hisan, A.K. Solikin, A. Irawati dan Mustikaningtyas, D. (2016). Uji efektifitas ekstrak *Sargassum muticum* sebagai alternatif obat bisul akibat aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students*, 1(1): 1-9.
- Khoiriyah, S., Hanapi, A. dan Fasya, A.G. (2014). Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri fraksi atil asetat, kloroform, dan petroleum eter ekstrak metanol alga coklat *Sargassum vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Alchemy Journal of Chemistry*, 3(2): 133-144.
- Lopez, A., Rico, M. Rivero, A. and de Tangil, M.S. (2011). The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, 125(3): 1104-1109.
- Ningrum, R., Purwanti, E. dan Sukarsono. (2016). Identifikasi senyawa alkaloid dari batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) sebagai bahan ajar biologi untuk SMA kelas X. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3): 231-236.
- Nuria, M.C., Chabibah, Z. Banu, S. dan Fithria, R.F. (2014). Penelusuran potensi fraksi n-heksan dan etil asetat dari ekstrak metanol daun gugur ketapang (*Terminalia catappa L.*) sebagai antidiare. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Klinik Farmasi*, 1(1): 163-173.
- Nurmahani, M.M., Osman, A. Abdul, H.A. Mohamad, G.F. dan Pak, D.M.S. (2012). Short communication antibacterial property of *hylocereus undatus* peel extracts. *International Food Research Journal*, 19(1): 77- 84.
- Opa, S.L. Bara, R.A. Gerung, G.S. Rompas, R.M. Lintang, R.A.J. dan Sumilat, D.A. (2018). Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, metanol, dan air dari ascidian *Lissoclinum* sp. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1(1) : 70-80.
- Putri, H.L., Retnowati, R. dan Suratmo. (2015). Fraksi n-heksana dari ekstrak metanol daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* koesterm) dan uji fitokimia. *Kimia Student Journal*, 1(1): 772-777.
- Singh, M.P. and Saxena, S. (2011). Phytochemical analysis and antimicrobial efficacy of methanolic extract of some medicinal plants at Gwalior region. *Journal of Pharmacy Research*, 4(10): 1-3.
- Sreedharan, S., Peterson, L.R. And Fisher, L.M. (1991). Ciprofloxacin resistance in coagulase-positive and -negative *Staphylococci*: Role of mutations at serine 84 in the DNA Gyrase A Protein of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 35 (10) : 2151-2154.
- Tiwari, P., Kumar, P. Kaur, M. and Kaur, G. (2011). Phytochemical screening and extraction. *International Pharmaceutica Sciencia*, 1(1).
- Waluyo, L. (2004). *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.