

Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Ubi Kayu (*Manihot esculenta Crantz*) Varietas Mentega Terhadap Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Secara *in Vitro*

Hayatul Akmalia¹, Zulfitri², Azwar Ridwan³

¹Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Bagian Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

³Bagian Ilmu Penyakit Telinga Hidung Tengorokan, Bedah Kepala Lehar, Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala, RS Zainoel Abidin, Banda Aceh

ABSTRAK

Kata Kunci:

Ekstrak daun ubi kayu,
antibakteri,
Methicillin resistant
Staphylococcus aureus.

Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan strain khusus *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin dan antibiotik golongan penisilin. Oleh karena itu, perlu dikembangkan alternatif pengobatan sebagai solusi mengatasi masalah resistensi antibiotik. Salah satu tanaman yang telah banyak dimanfaatkan secara tradisional adalah daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) varietas Mentega. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek antibakteri ekstrak etanol daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) varietas Mentega terhadap MRSA secara *in vitro*. Uji daya hambat antibakteri ini menggunakan metode difusi cakram. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol positif dan 1 kelompok kontrol negatif. Kelompok perlakuan terdiri dari ekstrak etanol daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) varietas Mentega konsentrasi 12,5%, 25%, 50% dan 75%. Kelompok kontrol positif yang digunakan adalah *Vancomycin* 30 µg dan kelompok kontrol negatif yang digunakan adalah CMC 1%. Hasil analisis data dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf 0,05 dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Hasil penelitian meunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) varietas Mentega pada konsentrasi diatas terhadap pertumbuhan bakteri MRSA dengan diameter zona hambat rata-rata masing-masing berturut adalah 12 mm, 10 mm, 11 mm, 14 mm. Hasil analisa data menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata ($p < 0,05$) dari hasil pemberian ekstrak daun ubi kayu dalam menghambat pertumbuhan *Methicillin resistant Staphylococcus aureus*. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) varietas Mentega memiliki efek antibakteri terhadap MRSA secara *in vitro*.

Korespondensi: zulfitri@unsyiah.ac.id (Zulfitri)

ABSTRACT

Keywords:

Extract of leaves
of cassava,
antibacterial,
Methicillin-resistant
Staphylococcus
aureus

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is a specific strain of Staphylococcus aureus resistant to methicillin and penicillin group of antibiotics. Therefore, alternative treatments need to be developed as a solution to overcome the problem of antibiotic resistance. One of the plants that have been used traditionally are the leaves of cassava (Manihot esculenta Crantz) Butter varieties. This study aims to prove the antibacterial effect of ethanol extract of leaves of cassava (Manihot esculenta Crantz) varieties of butter against MRSA in vitro. This antibacterial inhibition test using the disc diffusion method. This study used a completely randomized design consisting of 4 treatment groups, one positive control group and 1 negative control group. The treatment group consisted of ethanol extract of leaves of cassava (Manihot esculenta Crantz) varieties Butter concentration of 12.5 %, 25 %, 50 % and 75 %. Positive control group used was 30 mg Vancomycin and negative control group used is 1 % CMC. The results of the data analysis by using Analysis of Variance (ANOVA) at the level of 0.05 , followed by least significant difference test (BNT). The results of the study reveals that the ethanol extract of leaves of cassava (Manihot esculenta Crantz) varieties of butter at a concentration above the MRSA bacterial growth inhibition zone diameter average of each row is 12 mm, 10 mm, 11 mm, 14 mm . The results of the data analysis showed a highly significant effect ($p < 0.05$) from the results of cassava leaf extract in inhibiting the growth of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. The conclusion of this study is the ethanol extract of leaves of cassava (Manihot esculenta Crantz) varieties Butter has an antibacterial effect against MRSA in vitro.

PENDAHULUAN

Pada tahun 1852, tanaman ubi kayu masuk ke Indonesia. Tanaman ubi kayu bukan merupakan tanaman asli Indonesia, tetapi menjadi tanaman populer di Indonesia. Tanaman ubi kayu merupakan tanaman yang berasal dari benua Amerika yaitu dari di Brazil dan Amerika Tengah (Suriname, Meksiko, Venezuela, Peru, Bolivia dan Guyana). Ubi kayu memiliki varietas yang beragam, varietas ubi kayu yang unggul saat ini di Indonesia yaitu Adira 1, Adira 2, Adira 4, Darul Hidayah, Malang 1, Malang 2, Malang 4, Malang 6, Mentega, UJ 3 dan UJ 5.¹ Tanaman ubi kayu merupakan Salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan

masyarakat.² Di Negeria, daun dan akar digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan abses, tumor, konjungtivitis, dan luka.³

Menurut penelitian Thiyagarajan dan Suriyavathana, adanya kemampuan bioaktif yang paling penting dari daun ubi kayu varietas Mulluvadi I,CO3 adalah alkaloid, tannin, saponin, flavonoid, glikosida, dan phenol.⁴ Penelitian Zakaria daun ubi kayu varietas Sri Pontian menunjukkan adanya agen antibakteri yang efektif terhadap bakteri gram positif (*Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria Monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) dan bakteri gram negatif (*Vibrio cholerae*, *Shigella flexneri* dan *Salmonella typhi*).⁵ Penelitian Thiyagarajan dan

Suriyavathana dan daun ubi kayu varietas Mulluvadi I, CO3 menunjukkan adanya zona hambat pada *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Zona hambat *Staphylococcus aureus* pada daun ubi kayu varietas Mulluvadi I dengan konsentrasi 50 mg/ml zona hambat 29 mm dan konsentrasi 100 mg/ml zona hambat 27 mm, Sedangkan pada varietas CO3 konsentrasi 50 mg/ml zona hambat 25 mm dan konsentrasi 100 mg/ml zona hambat 27 mm.⁴

Staphylococcus aureus merupakan masalah infeksi utama yang terjadi di rumah sakit yang dikaitkan dengan tingginya angka dari mordibitas dan mortilitas seseorang.⁶ *Staphylococcus aureus* salah satu sumber infeksi yang sebagian besar terdapat dikulit dan bagian tubuh yang lain seperti telinga, membran mukosa, saluran kemih.⁷ *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan infeksi pada perineum dan nasofaring.⁸ *Staphylococcus aureus* sekarang menjadi penyebab utama terjadinya infeksi nosokomial. Isolat *Staphylococcus aureus* yang didapatkan dari unit perawatan intensif di seluruh negara dan dari isolat pada kultur darah menjadi semakin resisten terhadap sejumlah besar agen antimikroba. Pada tahun 1940 penisilin menyebabkan peningkatan secara dramatis terhadap prognosis pasien yang mengalami infeksi *Staphylococcus aureus*, disebabkan karena penisilin menjadi antibiotik yang resisten terhadap *Staphylococcus aureus*. Pada awal tahun 1942 *Staphylococcus aureus* dinyatakan resisten terhadap penisilin. Kemudian dilanjutkan dengan adanya resisten terhadap methicillin pada tahun 1960.⁹

Infeksi yang disebabkan oleh *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sudah menyebar diseluruh dunia sehingga mordibitas dan mortilitas sulit dikendalikan.¹⁰ Penyebaran MRSA menjadi sangat cepat hingga terjadi peningkatan infeksi nasokomial dan infeksi kulit. MRSA adalah penyebab utama terjadinya infeksi di rumah sakit yang semakin sulit untuk diberantas, karena saat ini muncul resistensi terhadap semua golongan antibiotik.¹¹ Pada tahun 2003, onset MRSA mencapai

64,4% di unit perawatan intensif Amerika Serikat.¹² *Staphylococcus aureus* menjadi resisten terhadap antibiotik, Sehingga memerlukan biaya yang mahal untuk terapi. Dengan adanya kondisi seperti ini perlunya penanganan secara khusus terhadap infeksi MRSA.¹³ Kondisi ini menyebabkan untuk mencari alternatif pengobatan yang lebih murah dan alami. Salah satunya dengan cara penggunaan bahan tanaman obat yang selama ini telah banyak digunakan oleh masyarakat, yaitu daun ubi kayu.³

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 kali pengulangan. Rancangan penelitian ini terdiri dari 6 kelompok, yaitu 4 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol. Kelompok kontrol terdiri dari kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif. Kelompok kontrol positif diberikan *vancomycin* 30 µg untuk MRSA, sedangkan kelompok kontrol negatif diberikan CMC 1%.

Pada uji pendahuluan menggunakan konsentrasi ekstrak 50%, 75%, 100%. Hasil aktivitas antibakteri ekstrak 16 mm, 17 mm dan 18 mm. Sesuai dengan klasifikasi Tambekar dan Dahikar, konsentrasi ekstrak 100%, 75%, 50% telah menunjukkan aktivitas antibakteri yang sedang dengan diameter zona hambat sebesar 18 mm, 17 mm, 16 mm terhadap MRSA. Oleh karena itu peneliti akan menggunakan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%.

Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Universitas Syiah Kuala. Pembuatan ekstrak dan uji fitokimia dilakukan di laboratorium Kimia Hayati FMIPA Universitas Syiah Kuala Uji herbarium dilakukan di laboratorium Herbarium Departemen Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala. Isolat uji diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi RSUDZA Kota Banda Aceh. Selanjutnya untuk pengujian antibakteri ekstrak daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala.

Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini, terdapat dua variabel yaitu : variabel Independen dan varibel dependen. Variabel independen yaitu konsentrasi ekstrak etanol daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) varietas mentega dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%. Sedangkan yang termasuk variabel dependen: adalah diameter zona hambat.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah *rotary vacuum evaporator*, autoklaf, cawan petri, gelas ukur, kapas, kapas lidi steril, kasa, kawat ose, labu erlenmeyer, lampu spiritus, mikroskop, rak tabung reaksi, *vortex*, kuvet, tabung reaksi, timbangan analitik, inkubator, oven, eppendrof, tip, kompor listrik, microwave, spektrofotometer, batang pengaduk, korek api, aluminium foil, selotip, gunting, sarung tangan, kertas label, jangka sorong, gelas kimia, kaca objek, test plate, tisu dan kertas saring.

Bahan yang digunakan adalah ekstrak etanol daun ubi kayu. Daun ubi kayu yang akan digunakan sebanyak 600 gr daun ubi segar. Daun ubi kayu diperoleh dari Desa Tengah, Kecamatan Manggeng, Kabupaten Aceh Barat Daya. Daun yang dipetik pada tangkai ke 4, 5, 6, 7 pada batang ubi kayu. Isolat MRSA, akuades, cakram kertas kosong, antibiotik (*vancomycin*), media *Nutrient Broth* (NB), media *Nutrient Agar* (NA), H₂O₂, safranin, lugol, alkohol 96%, kristal violet, media *Muller Hinton Agar* (MHA), minyak emersi, reagen koagulase.

Prosedur Penelitian

Alat-alat yang terbuat dari kaca seperti erlenmeyer, gelas ukur, dan tabung reaksi harus dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan serta dibungkus dengan kertas. Sterilisasi alat dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 150-170°C selama 1-2 jam. Ose dan pinset disterilkan dengan menggunakan bunsen spiritus dan didinginkan sebelum digunakan.

Terdapat beberapa media yang dipersiapkan dalam penelitian ini, yaitu: Media Nutrien Agar (NA), Media Nutrient Broth (NB), dan Media Mueller

Hinton Agar (MHA). Media *Nutrien Agar* (NA) ini digunakan pada pertumbuhan bakteri. Media ini berwarna kuning muda yang komponennya terdiri dari agar, ekstrak daging, pepton, dan NaCl. Prosedur pembuatannya yaitu erlenmeyer di isi 21 ml akuades yang ditambah dengan serbuk NA sebanyak 0,6 gram yang akan dibuat dalam 3 tabung reaksi. Pada suhu 121°C selama 15 menit dipanaskan hingga larut yang disterilkan menggunakan autoklaf. Kemudian pada setiap tabung raksi dituangkan sebanyak 7 ml. Tabung-tabung reaksi dimiringkan sebelum mengeras dan dibiarkan selama beberapa menit sampai mengeras.¹⁴

Untuk media *Nutrient Broth* (NB), pembuatannya dengan menyiapkan empat tabung reaksi diisi akuades steril sebanyak 20 ml yang dicampurkan dengan nutrient broth dengan jumlah 0,26 gram. Selanjutnya dipanaskan hingga larut. Selama 15 menit NB disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C. Kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml pada setiap tabung reaksi.¹⁴

Untuk Media *Mueller Hinton Agar* (MHA), pembuatannya dilakukan dengan memasukkan MHA sebanyak 3,4 gram ditambah 100 ml akuades ke dalam Erlenmeyer pada 4 cawan petri yang digunakan. Panaskan di kompor listrik hingga larut, selanjutnya pada suhu 121°C sterilkan dengan menggunakan autoclave selama 15 menit. Kemudian dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi 25 ml pada setiap cawan petri.¹⁴

Bakteri yang digunakan perlu dilakukan reidentifikasi dengan cara pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Untuk pemeriksaan makroskopis menggunakan bakteri yang telah tumbuh dalam media BA. Inokulasi diidentifikasi secara makroskopis berdasarkan bentuk koloni, permukaan, tepidan warna koloni. Koloni *Staphylococcus aureus* secara makroskopis memiliki diameter sekitar 0,5 mm dengan berbentuk bulat, berwarna putih, tepi koloninya halus, dan permukaannya rata.

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan cara pewarnaan gram dan pengamatannya dilakukan dibawah mikroskop. Kaca benda dibersihkan dengan menggunakan alkohol 96% dan di atasnya

diteteskan NaCl 0,9 %. Biakan kuman diambil dengan menggunakan ose steril dan dihomogenkan dengan NaCl serta difiksasikan di atas bunsen. Sediaan ditetesi dengan larutan kristal violet selama 3-5 menit lalu dicuci dengan air mengalir. Sediaan selanjutnya ditetesi dengan larutan lugol selama 1 menit dan dicuci dengan air yang mengalir. Sediaan selanjutnya ditetesi dengan alkohol 96% selama 10 detik dan langsung dicuci dengan air mengalir. Kemudian ditetesi larutan safranin selama 1 menit dan dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan diamati dengan mikroskop. Hasil pewarnaan Gram meliputi reaksi Gram (ungu - biru menunjukkan bakteri Gram positif, merah menunjukkan Gram negatif). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif maka pada pemeriksaan mikroskopis akan terlihat bakteri berbentuk bulat seperti anggur dan berwarna biru.

Uji Katalase dilakukan dengan mempersiapkan koloni bakteri MRSA yang ada pada media NA, ambil satu koloni MRSA dengan menggunakan ose letakkan pada kaca preparat, kemudian teteskan H_2O_2 , selanjutnya diaduk dengan ose sampai merata. *Staphylococcus* akan menunjukkan reaksi positif yaitu adanya gelembung udara, sedangkan *Streptococcus* akan menunjukkan hasil negatif.

Uji Koagulase dilakukan dengan mempersiapkan koloni bakteri MRSA yang ada pada media NA, ambil satu koloni MRSA dengan menggunakan ose, kemudian masukkan plasma 250 ml ke dalam tube steril dengan menggunakan mikropipet, selanjutnya di inkubasi pada suhu 37°C. Amati pada 4 jam pertama, lanjutkan hingga 24 jam berikutnya. Hasil positif dinyatakan bila pada kaca objek terjadi penggumpalan dalam waktu 4 jam dan 24 jam menunjukkan hasil *Staphylococcus aureus*.

Uji MRSA dilakukan dengan mempersiapkan inokulum sebanyak 3-5 bakteri diambil dengan ose yang sudah dipijarkan, kemudian masukkan ke dalam tabung berisi NaCl 0,9 %, selanjutnya suspensi bakteri yang digunakan diukur kerapatannya. Pengukuran kerapatan bakteri dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm

dan absorbansinya 0,08-0,10 untuk mendapatkan standar. kerapatan bakteri pada $1-2 \times 10^8$ Colony Forming Units per ml. Bakteri diinokulasikan kedalam media MHA dengan cara mencelupkan kapas lidi steril ke dalam inokulum. kapas lidi steril ditekan setelah itu diputar pada sisi tabung diatas batas cairan untuk menyingkirkan inokulum yang berlebihan. Kemudian inokulum digores ke seluruh permukaan media pada cawan dengan sudut 60° sebanyak 3 kali, selanjutnya kapas lidi dilewatkan ke sekeliling pinggiran permukaan agar. Biarkan inokulum mengering selama 3-10 menit pada suhu ruang dengan cawan tertutup.

Cakram antibiotik *vancomycin* 30 µg, *oxacillin* 1 µg, *linezolid* 30 µg, *metisilin* 5 µg, diletakkan dengan menggunakan pinset pada MHA dan diinkubasi pada selama 24 jam pada suhu 37° C selama 24 jam. Apabila zona hambat ≤ 10 mm menunjukkan *S. aureus* resisten terhadap *metisilin* atau *oxacillin* yang menunjukkan hasil uji MRSA positif, sedangkan zona hambat ≥ 13 mm menunjukkan sensitif terhadap *metisilin* atau *oxacillin*.

Uji Herbarium Daun Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) dilakukan untuk mengetahui taksonomi dari ubi kayu yang digunakan pada penelitian ini. Uji herbarium dilaksanakan di Laboratorium herbarium Biologi FMIPA UNSYIAH. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Ubi Kayu dilakukan dengan cara mengambil daun ubi kayu dari helaian ke 4 sampai ke 7 dari pucuk. Daun ubi kayu dibersihkan dengan air yang mengalir, dibuang tangkai dan dikering anginkan selama 5 hari. Kemudian dihancurkan untuk mendapatkan serbuk simplisia daun ubi kayu dimaserasi dengan menggunakan 1 liter pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekat kan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak etanol daun ubi kayu varitas mentega diencerkan dengan menggunakan CMC 1% dalam berbagai konsentrasi yaitu : 12,5%, 25%, 50%, 75%. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\frac{V1.M1=V2.M2}{\Delta V= V2-V1}$$

Keterangan :

V_1 = Volume awal (ml)

V_2 = Volume yang diinginkan (%)

M1 = Konsentrasi awal (%)

M2 = Konsentrasi yang diinginkan (ml)

ΔV = Volume akuades steril yang ditambahkan (ml)

Pelaksanaan uji daya hambat ini menggunakan metode difusi agar (metode perforasi). Uji ini menggunakan media MHA. Pertama lakukan suspensi bakteri dengan mempersiapkan inokulum sebanyak 3-5 bakteri diambil dengan ose yang sudah dipijarkan, kemudian masukkan ke dalam tabung berisi NaCl 0,9 %, selanjutnya suspensi bakteri yang digunakan diukur kerapatannya. Pengukuran kerapatan bakteri dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm dan absorbansinya 0,08-0,10 untuk mendapatkan standar kerapatan bakteri pada $1-2 \times 10^8$ Colony Forming Units per ml. Bakteri diinokulasikan kedalam media MHA dengan cara mencelupkan kapas lidi steril ke dalam inokulum. kapas lidi steril ditekan setelah itu diputar pada sisi tabung diatas batas cairan untuk menyingkirkan inokulum yang berlebihan. Kemudian inokulum digores ke seluruh permukaan media pada cawan dengan sudut 60° sebanyak 3 kali, selanjutnya kapas lidi dilewatkan ke sekeliling pinggiran permukaan agar. Biarkan inokulum mengering selama 3-10 menit pada suhu ruang dengan cawan tertutup. Pengujian ekstrak etanol daun ubi kayu varietas Mentega menggunakan cakram kosong (oxid) dengan ukuran 5 mm. Larutan yang telah diencerkan dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% ditetaskan pada permukaan cakram sebanyak 20 μ l kemudian tunggu beberapa saat hingga larutan berdifusi ke dalam cakram. Letakkan cakram pada media MHA yang telah diinokulasi dengan menggunakan pinset steril. Sebagai control negatif, sebanyak 20 μ l CMC 1% ditetaskan pada permukaan cakram, tunggu beberapa saat dan letakkan pada media MHA yang telah diinokulasi. Sedangkan cakram antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif langsung diletakkan pada media MHA yang telah diinokulasi. Kemudian lakukan inkubasi media MHA yang telah diinokulasi pada suhu $34-37^\circ\text{C}$

selama 18-24 jam.

Skrining Fitokimia dilakukan dengan cara: ekstrak etanol daun ubi kayu varietas mentega ditambahkan 10 mL kloroform dan 1 mL amoniak lalu disaring. Kemudian ditambahkan 10 ml asam sulfat pekat (H_2SO_4 2N) kemudian dikocok, didiamkan sampai larutannya terpisah. Selanjutnya dimasukkan lapisan asam sulfat yang terbentuk dipisahkan dengan tiga bagian ke dalam *test plate*. Pada bagian pertama ditambahkan reagen Meyer, apabila terjadi endapan putih maka positif alkaloid. Pada bagian kedua ditambah reagen Wagner, bila terjadi endapan bewarna coklat maka positif alkaloid. Bagian ketiga ditambahkan reagen Dragendorff, bila terdapat warna kemerahan.

Uji saponin, steroid dan terpenoid dilakukan dengan cara: ekstrak daun ubi kayu ditambahkan akuades lalu dipanaskan selama 5 menit. Lalu dikocok selama 5 menit, jika terbentuk busa setinggi kurang lebih 1 cm dan tetap stabil setelah didiamkan selama 10 menit menandakan positif saponin. Pada uji steroid ekstrak daun ubi kayu ditambahkan 12,5 mL etanol 30% kemudian dipanaskan 15 menit dan disaring. Filtratnya diuapkan kemudian ditambahkan dengan eter. Lapisan eter ditambahkan dengan pereaksi Lieberman Buchard. Steroid positif menunjukkan adanya warna hijau, sedangkan terpenoid menunjukkan warna merah atau ungu.

Uji Flavonoid dan Uji Tanin juga dipersiapkan dalam penelitian ini. Uji flavinoid dilakukan dengan cara menambahkan metanol 96% ke dalam ekstrak daun ubi kayu, kemudian dipanaskan selama 15 menit, lalu di tambahkan H_2SO_4 . Terbentuknya warna merah menunjukkan positif flavonoid. Sebaliknya, uji tanin dilakukan dengan menambahkan akuades 12,5 mL ke dalam ekstrak daun ubi kayu. Selanjutnya dididihkan selama 5 menit. Kemudian disaring dan ditambahkan FeCl_3 1%. Positif tanin menunjukkan adanya warna biru tua atau hitam kehijauan.

Parameter

Aktivitas bakteri MRSA ekstrak etanol daun ubi kayu dapat dilihat terbentuk daya hambat pada media MHA yaitu adanya zona bening. Pengukuran

diameter zona bening dapat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm).

Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh, diuji normalitas dengan menggunakan uji *One Sample Kolmogorov-Smirnov* dan homogenitasnya uji *Levene* kemudian dianalisis menggunakan *Analysis of varian* (ANOVA) dengan nilai $p < 0,05$ dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Herbarium

Hasil identifikasi daun ubi kayu berdasarkan uji herbarium yang dilakukan di Laboratorium Herbarium Departemen Biologi FMIPA Unsyiah menunjukkan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ubi kayu.

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super Divisii	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Rosidae
Orde	: Euphorbiales
Genus	: <i>Manihot</i>
Spesies	: <i>Manihot esculenta Crantz</i>
Varietas	: Mentega

Hasil Ekstraksi Daun Ubi Kayu Varietas Mentega

Daun Ubi Kayu varietas Mentega yang diperoleh dari desa Tengah, Kecamatan Manggeng, Kabupaten Aceh Barat Daya dengan berat basah 2 kg yang telah dikering anginkan menghasilkan berat 600 gr. Hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1 liter selama 3 x 24 jam, diperoleh ekstrak etanol daun ubi kayu varietas Mentega.

Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan pada ekstrak etanol daun ubi kayu varietas Mentega. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah kandungan senyawa

tersebut setelah mengalami proses ekstraksi. Hasil uji fitokimia terhadap daun ubi kayu varietas Mentega menunjukkan adanya kandungan senyawa *steroid*, *tanin*, *alkaloid* dengan reagen Mayer dan reagen Drangendorf. Tidak ditemukan adanya kandungan reagen Wagner pada *alkaloid*, *flavonoid*, *saponin* dan *terpenoid*.

Tabel 4.1 Hasil Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Ubi Kayu Varietas Mentega pada wanita dengan infeksi HIV primer muncul ketika plasma jumlah virus yang aktif berada pada titik tertinggi (*peak*). Sedikitnya penularan terjadi pada plasma HIV dengan *viral load* < 1000 copi/mL, tanpa memperhatikan apakah ibu tersebut Berdasarkan dari tabel 4.1 ekstrak etanol daun ubi kayu varietas Mentega mengandung senyawa *steroid*, *tanin*, *alkaloid* dengan reagen Mayer dan reagen Drangendorf. Kandungan daun ubi kayu varietas Mentega sedikit berbeda dengan penelitian Kumar dkk adanya kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun ubi kayu memiliki konsituen yang paling bioaktif yaitu *alkaloid*, *tanin*, *saponin*, *flavonoid*, *glikosida*, dan *phenol*.^{15,16}

Hasil Identifikasi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Hasil identifikasi MRSA

Hasil pemeriksaan secara makroskopis, koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media NA tampak berwarna kuning, berkilau, permukaan meninggi, bentuk bulat, dan tepi rata. Sesuai dengan pernyataan Brooks, Janet dan Stephen bahwa *Staphylococcus aureus* berwarna kuning, bentuknya bulat, meninggi, dan berkilau.¹⁷

Hasil Pemeriksaan Secara Mikroskopis

Pada hasil pemeriksaan mikroskopis didapatkan *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, kokus, tersusun secara tunggal atau berpasangan bergerombol dan berwarna ungu.. Pada mikroskop cahaya terlihat ukuran yang terbentuk 0,5 sampai 1,5 μ , berbentuk seperti anggur dan berkelompok.¹⁸ Pada pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* menunjukkan bakteri gram positif yang berbentuk kokus dan berwarna

ungu disebabkan karena sel akan mengikat senyawa crystal violet-iodine yang memiliki warna ungu. Pada saat ditetesi dengan menggunakan alkohol, maka senyawa tersebut akan mengikat diri pada lapisan peptidoglikan sehingga akan menjadi zat warna tersebut tidak lun Uji Katalase. Pada penelitian ini uji katalase menunjukkan hasil positif, yaitu terbentuknya gelembung-gelembung.

Hasil uji tersebut membuktikan bahwa bakteri yang digunakan merupakan *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus* memiliki enzim katalase yang memiliki fungsi untuk merubah hidrogen peroksida yang bersifat toksik terhadap bakteri itu sendiri menjadi H₂O dan O₂ sehingga menunjukkan hasil positif.¹⁷

Uji Koagulase

Dari hasil uji koagulase menunjukkan adanya pengendapan sehingga membuktikan hasil uji koagulase positif. Partikel dilapisi oleh fibrinogen (untuk deteksi koagulase bentuk terikat) dan IgG (untuk deteksi protein A stafilokokus). Protein A adalah suatu komponen dinding sel yang khas untuk *Staphylococcus aureus* yang secara nonspesifik berikatan dengan region Fc molekul IgG. Pembentukan kisi-kisi partikel atau sel *Staphylococcus aureus* menyebabkan gumpalan partikel lateks yang dapat dilihat.¹⁹

Hasil Uji Resistensi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini uji resisten MRSA dilakukan menurut *Clinical and Labor* Hasil Uji Resistensi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* didapatkan bahwa bakteri yang telah diuji terhadap Sensitif terhadap Vankomicin 30 µ dan Linezolid 30 µ. Resistensi terhadap Methicillin 30 µ dan Oxacillin 5 µ. *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin dan antibiotik golongan penisilin. MRSA memiliki gen penyandi yang resisten terhadap antibiotik untuk semua golongan penisilin, termasuk methicillin dan golongan β laktam.²⁰ Vankomicin dan Linezolid merupakan obat yang dapat bertahan terhadap *penisilinase* yang terdapat pada MRSA.²¹

Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Ubi Kayu Varietas Mentega Terhadap MRSA

Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Ubi Kayu (*Manihot esculenta Crantz*) Varietas Mentega Terhadap MRSA setelah dikoreksi menggunakan diameter rata-rata zona hambat dapat disajikan dalam gambar 4.6 dan tabel 4.3. Diperoleh bahwa perlakuan P1 (12,5%), P2 (25%), P3 (50%), P4 (75%) dengan konsentrasi dan masing-masing terbentuk zona hambat dengan diameter rata-rata 12 mm, 10 mm, 11 mm, 14 mm. Pada perlakuan P0 dengan menggunakan CMC 1% sebagai kontrol negatif tidak memiliki zona hambat dan P5 menghasilkan zona hambat 17 mm. Adanya aktivitas antibakteri berupa zona bening yang terbentuk pada media MHA. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun ubi kayu dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 75% memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA.

Hasil pengujian normalitas dan homogenitas dengan menggunakan uji *One Sample Kolmogorov-Sminorv Test* dan uji *Levene* menunjukkan bahwa sebaran data yang ada berdistribusi normal dan bervariasi homogen. Kemudian data hasil pengukuran dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Hasil analisis data dengan menggunakan ANOVA untuk aktivitas antibakteri daun ubi kayu terhadap *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* diperoleh nilai nilai $F_{hitung} = 92,579$ dan $F_{tabel} = 2,773$ pada taraf 5%. Hasil ini menunjukkan bahwa F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} pada taraf 5% dan membuktikan bahwa ekstrak etanol daun ubi kayu dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 75% memiliki pengaruh terhadap *Methicillin resistant Staphylococcus aureus*. Sehingga uji ANOVA valid untuk menguji hubungan ini. Hasil uji ANOVA pada tabel 4.5 menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna dari ekstrak daun ubi kayu varietas mentega dalam menghambat pertumbuhan MRSA dengan nilai ($P > 0,05$) dapat menghambat pertumbuhan Selanjutnya, analisis data dilanjutkan dengan Uji BNT. Hasil pengolahan data berdasarkan BNT menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ubi kayu varietas Mentega dapat menghambat pertumbuhan MRSA pada semua perlakuan kecuali pada kontrol P0 yaitu CMC 1 % sebagai kontrol negatif

Tabel 1. Hasil uji BNT : rata-rata diameter zona hambat MRSA terhadap berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun ubi kayu varietas mentega, vankomicin dan CMC 1 %.

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata ± SD
P0 (CMC 1 %)	0,00 ^a ± 0,00
P1 (Ekstrak Daun Ubi Kayu Varietas Mentega 12,5%)	97,5 ^b ± 1,70
P2 (Ekstrak Daun Ubi Kayu Varietas Mentega 25%)	95,0 ^b ± 1,29
P3 (Ekstrak Daun Ubi Kayu Varietas Mentega 50%)	11,0 ^b ± 0,81
P4 (Ekstrak Daun Ubi Kayu Varietas Mentega 75%)	12,7 ^c ± 0,95
P5 (<i>Vancomycin</i> 30 µg)	16,5 ^d ± 5,22

tidak ditemukan daya hambat sehingga hipotesis dalam penelitian ini yang menyatakan ekstrak etanol daun ubi kayu varietas Mentega dapat menghambat pertumbuhan MRSA terpenuhi. Hal ini dibuktikan dengan adanya diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi terhadap pertumbuhan MRSA. Berdasarkan tabel dibawah terlihat bahwa kelompok perlakuan P1, P2, P3 menunjukkan persamaan antar setiap perlakuan dan perbedaan yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1, P4 dan P5 dalam menghambat pertumbuhan MRSA (Tabel 1).

Perlakuan dengan simbol P1, P3 dan P4 memiliki zona hambat yang lebih kuat dibandingkan dengan kelompok perlakuan P0, P2. Akan tetapi kelompok perlakuan P3 dan P4 memiliki zona hambat lemah dibandingkan dengan perlakuan P5 yaitu *Vancomycin* 30 µg sebagai kontrol positif. Kemampuan ekstrak etanol daun ubi kayu varietas Mentega untuk menghambat pertumbuhan MRSA dapat dikelompokkan berdasarkan klasifikasi Tambekar dan Dahikar dapat dilihat pada tabel 2.

Dari penelitian yang telah dilakukan hasil daya hambat ekstrak etanol daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) Varietas Mentega Terhadap MRSA diperoleh bahwa perlakuan dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 75% masing-masing terbentuk zona hambat dengan diameter rata-rata 12 mm, 10 mm, 11 mm, 14 mm. Sedangkan pada penelitian Zakaria daun ubi kayu varietas Sri Pontian menunjukkan adanya agen antibakteri yang efektif terhadap bakteri gram positif (*Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria Monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) dan bakteri gram negatif (*Vibrio cholerae*, *Shigella flexneri* dan *Salmonella typhi*). (5) Kemudian adanya perbedaan pada Penelitian Thiyagarajan dan Suriyavathana pada daun ubi kayu varietas Mulluvadi I, CO3 menunjukkan adanya zona hambat pada *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Jika dibandingkan dengan penelitian Zakaria zona hambat *Staphylococcus aureus* pada daun ubi kayu varietas Mulluvadi I

Tabel 2. Respon Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Ubi Kayu (*Manihot esculenta Crantz*) Varietas Mentega Bakteri menurut Tambekar dan Dahikar

Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Ubi Kayu Varietas Mentega	Rata-Rata Zona Hambat (mm)	Respon Zona Hambat menurut Tambekar dan Dahikar
12,5%	12 mm	Lemah
25%	10 mm	Lemah
50%	11 mm	Lemah
75%	14 mm	Lemah

dengan konsentrasi 50 mg/ml zona hambat 29 mm dan konsentrasi 100 mg/ml zona hambat 27 mm, Sedangkan pada varietas CO3 konsentrasi 50 mg/ml zona hambat 25 mm dan konsentrasi 100 mg/ml zona hambat 27 mm.⁴ Perbedaan dari hasil penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan bakteri uji dan cara penyimpanan ekstrak. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang tebal (15-80 nm), berlapis tunggal (mono). Dinding selnya mengandung lipid, asam teikoat dan peptidoglikan. Peptidoglikan merupakan komponen utama penyusun dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri gram positif lebih tebal dibandingkan dengan gram negatif, maka bakteri gram positif lebih resisten dibandingkan dengan gram negatif. Selain faktor diatas, salah satu faktor yang bias menyebabkan perbedaan daya hambat dikarenakan cara penyimpanan dari ekstrak tersebut. Sehingga memungkinkan menurunnya daya aktivitas antibakteri terhadap bakteri tersebut.²²

Terdapatnya perbedaan aktivitas antibakteri antar perlakuan disebabkan oleh tingkat konsentrasi antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi zat antibakteri, semakin banyak jumlah zat aktif antibakteri yang terkandung dan semakin besar antibakterinya.¹⁷ Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak enatol daun ubi kayu memiliki daya hambat untuk untuk pertumbuhan bakteri *Methicillin resistant Staphylococcus aureus*. Hal tersebut diduga akibat adanya aktivitas antibakteri. Senyawa- senyawa tersebut seperti kandungan senyawa *steroid, tanin, alkaloid* dengan reagen Mayer dan reagen Drangendorf. Sedangkan menurut penelitian Thiyagarajan dan Suriyavathana, adanya kemampuan bioaktif yang paling penting dari daun ubi kayu varietas Mulluvadi I,CO3 adalah alkaloid, tannin, saponin, flavonoid, glikosida, dan phenol.⁴

Senyawa-senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak daun ubi kayu akan merusak dinding maupun membran sel bakteri dan menyebabkan kematian sel bakteri.¹⁶ Senyawa alkaloid mengandung racun yang dapat menyebabkan sel bakteri menjadi lisis.²³ Alkaloid dapat mempengaruhi penyusunan dinding sel bakteri, yakni mengganggu pada saat

pembentukan peptidoglikan sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh.²⁴ Tanpa dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mengalami kematian.²⁵ Toksisitas dari tanin dapat mengkerutkan dan merusak membran sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup dan selanjutnya akan membuat pertumbuhan sel terhambat dan mati. (54) Tanin memiliki fungsi untuk mengikat dan mempresipitasi protein/enzim sehingga merusak bakteri. (55) Steroid merupakan salah satu golongan saponin sehingga memiliki mekanisme yang sama seperti antibakteri. Steroid juga memiliki ampifatik yang dapat melarutkan protein membran. Adanya fungsi yang dapat membentuk ikatan steroid-protein bakteri sehingga mengganggu perkembangan bakteri dan menyebabkan pecah, lisis sel atau bahkan mati. Steroid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran sel sehingga sel tidak terbentuk atau terbentuk dalam kondisi yang tidak sempurna.²³

KESIMPULAN

Berdasarkan temuan dan analisa data dari penelitian ini, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol Daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* secara in vitro
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun ubi kayu 12,5% merupakan konsentrasi optimal dalam menghambat pertumbuhan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan uji daya hambat daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) dengan metode lain.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap daun ubi kayu varietas lain untuk mengetahui kandungan yang paling efektif untuk menghambat bakteri MRSA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tribadi, Suranto, Sajidan. Variasi morfologi dan pola pita protein uni kayu (*Manihot esculenta*) varietas Adira1 dan Cabak makao di Ngawi, Jawa Timur. *Bioteknologi*. 2010; 7 (2): 73-84.
2. Prapti U. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agro Media; 2008. p. 1-2.
3. Sujatha S, Baby J, Jamila RVB. Bioactivity and biochemical characterization of *Manihot esculenta* Crantz. *Journal of Biotechnology and Mikrobiology*. 2012;1(1):8-14.
4. Thiyagarajan M, Suriyavathana M. Phytochemical and Antimicrobial Screening of *Manihot Esculenta* Crantz Varieties Mulluvadi I, CO3 Root Bark. *International Journal of Biotechnology & Biochemistry*. 2010;. (6)859-864.
5. Thiyagarajan M, Suriyavathana M. Phytochemical and Antimicrobial Screening of *Manihot Esculenta* Crantz Varieties Mulluvadi I, CO3 Root Bark. *International Journal of Biotechnology & Biochemistry*. 2010;. (6)859-864.
6. Alex S, Francesc M, Jose´AM, Elena P, Manel A, Veselka PD, Dolores A, Mar O, Josefina L, Josep M. Influence of Vancomycin Minimum Inhibitory Concentration on the Treatment of *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* Bacteremia. *The Infectious Diseases Society of America*. 2008; 46:193–200.
7. Lisa, Kevin FC. *Staphylococcus aureus infections*. United States of Amerika: Chelsea House Publishers; 2006. p. 28-29.
8. Henry FC. The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Universi of California San Francisco and San Francisco General Hospital. 2001;7(2).
9. Franklin DL. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus* Division of Infectious Diseases, Departments of Medicine and Pathology. 2003;1265-1273.
10. Shanmuganathan VA, Armstrong M, Buller A, Tullo AB. External ocular infections due to *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Manchester Royal Eye Hospital Department of Microbiology*. 2004;284–291.
11. Mark CE, Ashley DR, Gaynor R, Edward JF, Hajo G, Brian GS. The evolutionary history of *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Institute of Molecular Medicine Oxford*. 2002;7687–7692.
12. Monina KR, Melissa AM, Joelle N, Susan P, Ken G, Susan R, Lee HH, Ruth L, Ghinwa D, John MT, Allen SC, Elizabeth RZ, Gregory EF, Linda K. Mc, Roberta BC, Scott KF. Invasive *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* Infections. *American Medical Association*. 2007;(15).298.
13. Risa N, Yunita. The Potent of Methanol Extracts of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Against *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Natural*. 2012;12(2).
14. Talaro KP. *Foundation In Microbiology Seventh Edition*. New York : McGraw-Hill. 2008. p. 535-543.
15. Kumar AR, Subburathinam KM, Prabakar G. Phytochemical screening of selected medicinal plants of asclepiadaceae family. *Microbiol Biotechnol Environ Sci*. 2007;2(11): 486-490.
16. Isnatin M, Ferdiyanto D, Sufi D. Analgesic activity of ethanolic extract of *Manihot esculenta* Crantz leaves in mice. *Univ Med*. 2001;30(1).
17. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*. Alih bahasa : Huriawati H. Edisi ke-23.2007. p. 35.
18. Vasanthakumari S. *Textbook of microbiology*. New Delhi: PVT ITD. 2007. p.185.
19. Ajizah A. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L.

- Bioscientiae. Skripsi. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Unibersitas Lambung Mangkurat: Banjarmasin. p. 31-38
20. 2Hsin H, Neil MF, Jeff HK, Caroline M, Margaret M, Stuart H. Comparisons of Community Associated *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) and Hospital Associated MSRA Infections in Sacramento, California. *American Society for Microbiology*. 2006;2423–2427.
 21. Gunawan SG, Nafrialdi RS, Elysabeth. Farmakologi dan Terapi UI. 5th ed. Jakarta: Balai Penerbit FKUI;2005
 22. Poeloengan M, Komala I, Noor SM, Andriani Rianti, SRP. Aktivitas air perasaan, minyak atsiri dan ekstrak etanol daun sirih terhadap bakteri yang diisolasi dari sapi mastitis subklinis. Seminar Nasional Teknologi Pertenakan dan Veteriner. Bogor; 2006.
 23. Harbone JB. *Phytochemical Methods*. Bandung: Institut Teknologi Bandung;1987.p.1-32
 24. Robinson. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB. Bandung. 1998.
 25. Wattimena GA, Nelly MB, Widiati Be, Sukandar, Seomardji AA,Setiadi AR. *Farmakodinamika dan Terapi Antibiotik*. Gajah Mada Univesity: Yogyakarta; 1991.