

## Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lamk.) Dan Identifikasi Senyawa Dengan Metode GC-MS

Misrahanum Misrahanum<sup>1\*</sup>, Cut Aja Dian Zahira<sup>1</sup>, Nurdin Saidi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Aceh, Indonesia

<sup>2</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Aceh, Indonesia

Email: misra.hanum@unsyiah.ac.id

### ABSTRAK

Gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antibakteri. Pada umumnya resin gaharu digunakan menjadi sediaan parfum. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gaharu. Senyawa yang diperoleh dari hasil analisis GC-MS sebanyak 23 senyawa dengan persentase area terbesar adalah *Squalene*, *Phytol*, *Heneicosane*, *9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester*, *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester, beta. –Sitosterol*, *ICOSANE* (4,57%), *Vitamin E* dan *Hexadecanoic acid, methyl ester*. Aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran pada variasi konsentrasi 5; 10; 15; 20 dan 30 % terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* zona hambat yang diperoleh sebesar 6,09; 6,72; 7,78; 8,65; dan 9,63 mm pada bakteri *E. coli* sedangkan zona hambat *S. aureus* sebesar 10,37; 10,44; 11,63; 12,21; dan 13,34 mm. Hasil menunjukkan ekstrak etanol daun gaharu aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

**Kata Kunci:** Gaharu, Senyawa Kimia, *E. coli*, *S. aureus*

### ABSTRACT

Agarwood (*Aquilaria malaccensis* L.) is a plant that has antibacterial activity. Generally, resin to gaharu is used to make perfume. This research was conducted to determine the compound content and antibacterial activity of ethanol extracts of agarwood. The results of the Analysis of the compound content using the GC-MS instrument the ethanol extract contained 23 components with a larger area *Squalene*, *Phytol*, *Heneicosane*, *9,12.15-Octadecatrienoic acid, methyl ester*, *1,2-Benzenecarboxylic acid, mono (2-Ethylhexyl) ester, beta. – Sitosterol*, *ICOSAN*, *Vitamin E* and *Hexadecanoic acid, methyl ester*. Testing of antibacterial activity using the well method at various concentrations of 5;

10; 15; 20 and 30%. The results activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Agarwood leaves ethanol extract obtained inhibition zone diameters of 6.09; 6.72; 7.78; 8.65; and 9.63 mm on *E. coli* bacteria while on *S. aureus* the inhibition zones were 10.37; 10.44; 11.63; 12.21; and 13.34 mm. The result showed that ethanol Agarwood extract is active in inhibiting the growth of *E. coli* and *S. aureus* bacteria.

**Keywords:** Agarwood, Chemical Compound, *E. coli*, *S. aureus*

## I. PENDAHULUAN

Negara tropis seperti Indonesia merupakan negara dengan keadaan udara berdebu, memiliki temperatur suhu hangat dan lembab yang sangat berpotensi bakteri dapat tubuh subur. Keadaan lingkungan tersebut menyebabkan penyakit infeksi semakin mudah untuk berkembang. Selain itu penggunaan obat antibakteri yang tidak tepat juga menjadi faktor yang menyebabkan terjadinya resistensi bakteri. Sehingga cara tepat untuk mengantisipasi adalah dengan mengatur pola pemakaian antibiotik atau dengan solusi lain dengan mencari obat-obatan yang dapat mengatasi penyakit infeksi dari bahan alam (Hastari, 2012).

Salah satu jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan penyakit infeksi adalah gaharu (*A. malaccensis*). Secara empiris gaharu diketahui memiliki manfaat sebagai antiinflamasi, antidepresan, stimulant saraf, antidiare dan antimalaria. Selain itu, air limbah yang dihasilkan dari proses penyulingan minyak gaharu dimanfaatkan untuk menghaluskan kulit wajah dan perawatan wajah (Sumarna, 2002). Ekstrak

etanol daun *A. malaccensis* mempunyai *Minimum Bactericidal Concentration* 64 mg/mL terhadap *E. coli* dan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) 64 mg/MI (Jihadi *et al.*, 2020). Ekstrak etanol daun *A. malaccensis* menghasilkan zona hambat terhadap *S. aureus* sebesar 19.90 mm pada konsentrasi 5 mg/mL (Ridwan *et al.*, 2021).

Namun sejauh ini masih sedikit penelitian mengenai potensi antibakteri daun *A. malaccensis* yang berasal dari Aceh. Berdasarkan hal tersebut di atas dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun gaharu dengan etanol sebagai pelarut dan dilakukan analisis senyawa dengan GC-MS.

## II. METODE

### A. Preparasi Sampel

Determinasi telah dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor.

### B. Alat dan Bahan

Alat-Alat yang digunakan meliputi bejana maserasi, rotary evaporator (*BUCHI*<sup>®</sup>), inkubator (*Memmert*<sup>®</sup>), timbangan analitik (*MATRIX*<sup>®</sup> AJ1002B), autoklaf (Hirayama Hiclave HVE-50),

*Laminar Air Flow Cabinet (Microbiology Safety Cabinet®), Gas Chromatograph with Auto Samples and 5975 Mass Selective Detector and Chemstation data system.*

Bahan-bahan yang digunakan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*, media Nutrient Agar (Merck®), media Mueller Hinton Agar (Merck®), media Simmons Citrate Agar (Merck®), etanol dan ciprofloxacin.

### C. Penanganan Sampel

Pengambilan sampel dengan kriteria daun berwarna hijau dan daun segar (*purposive sampling*). Selanjutnya daun dicuci dengan air yang mengalir dan dikering anginkan pada suhu ruang untuk memperoleh simplisia daun (Novia *et al.*, 2020).

### D. Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 10 kg daun *A. malaccensis* dicuci dan dilakukan sortasi basah, kemudian dikering anginkan pada suhu ruangan dan selanjutnya simplisia diblender untuk memperkecil luas permukaannya. Serbuk simplisia kemudian dimaserasi dengan perbandingan 1:10 selama 7 hari. Kemudian maserat dipekatkan dengan rotary evaporator (Anief, 2010).

### E. Analisis GC-MS

Ekstrak kental daun gaharu (*A. malaccensis*) dilarutkan dalam pelarut

etanol, dan dihomogenkan dengan vortek kemudian didiamkan selama 30 menit. Larutan untuk injeksi disiapkan sebanyak 5 µl dengan aliran Split 8:1. Kolom yang digunakan *HP Ultra 2, capillary column* (30 m X 0.20 mm X 0.11 m) dan helium sebagai gas pembawa dengan laju aliran pembawa 1.2 ml/menit. *Temperatur injector* pada 250°C dan temperatur sumber ion pada 230°C. Suhu awal oven diatur pada 80°C ditahan selama 0 menit, dinaikkan 3°C/menit hingga 150°C ditahan selama 1 menit, kemudian dinaikkan 20°C/menit hingga mencapai 280°C dan ditahan selama 26 menit. Spektrum massa diambil pada 70 eV.

### E. Aktivitas Antibakteri

Pembuatan suspensi bakteri setara dengan McFarland 0,5 (WHO, 2011). Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran pada konsentrasi 5; 10; 15; 20 dan 30%.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai rendemen yang diperoleh berbeda dengan hasil penelitian Eko yaitu 29.97% (Eko *et al.*, 2020) dan Annisa sebesar 22.8% (Annisa, 2020). Nilai rendemen berhubungan dengan senyawa aktif yang terkandung dalam suatu bahan baku. Dimana senyawa aktif semakin tinggi dengan tingginya nilai rendemen (Hasnaeni

et al., 2019). Ekstrak *A. malaccensis* yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil uji aktivitas ekstrak terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel I dan Tabel II.



**Gambar 1.** Ekstrak daun *A. malaccensis*

**Tabel I.** Hasil uji ekstrak etanol *A. malaccensis* terhadap bakteri *E. coli*

Konsentrasi Ekstrak Daun <i>A. malaccensis</i> (%)	Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol (mm ± SD)
5	6.09 ± 0.01
10	6.72 ± 0.02
15	7.78 ± 0.04
20	8.65 ± 0.01
30	9.63 ± 0.01
Kontrol +	32.36 ± 0.06
Kontrol -	0 ± 0

Keterangan:

Kontrol +: Antibiotik Ciprofloxacin

Kontrol -: Pelarut

**Tabel II.** Hasil uji ekstrak etanol *A. malaccensis* terhadap bakteri *S. aureus*

Konsentrasi Ekstrak Daun <i>A. malaccensis</i> (%)	Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol (mm ± SD)
5	10.37 ± 0.02
10	10.44 ± 0.07
15	11.63 ± 0.04
20	12.21 ± 0.06
30	13.34 ± 0.03
Kontrol +	39.28 ± 0.04
Kontrol -	0 ± 0

Keterangan:

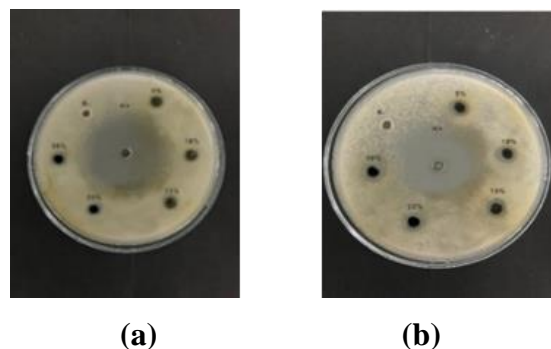
Kontrol +: Antibiotik Ciprofloxacin

Kontrol -: Pelarut

Pada konsentrasi 30% diameter zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* rata-rata diameter sebesar 9.63 dan 13.34 mm (Gambar 2). Menurut Morales (2003) diameter zona hambat yang dihasilkan > 6mm sudah memiliki aktivitas antibakteri. Hasil uji menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk karena komponen bioaktif di dalam suatu ekstrak semakin banyak (Rahmawati *et al.*, 2011). Selain itu konsentrasi dan jenis bahan antibakteri juga akan berpengaruh terhadap kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Ajizah, 2004).

Perbedaan kepekaan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif yang menyebabkan adanya perbedaan zona yang terbentuk, dimana penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *E. coli*.

Lapisan sel bakteri Gram negatif yang berlapis-lapis dengan kandungan lemak 11-12%, bakteri lebih tahan terhadap perubahan lingkungan oleh bahan kimia. Sedangkan bakteri Gram positif dinding selnya 90% lapisan peptidoglikan dan lapisan asam teikoat (Ancela *et al.*, 2015). Bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap paparan senyawa antibakteri.

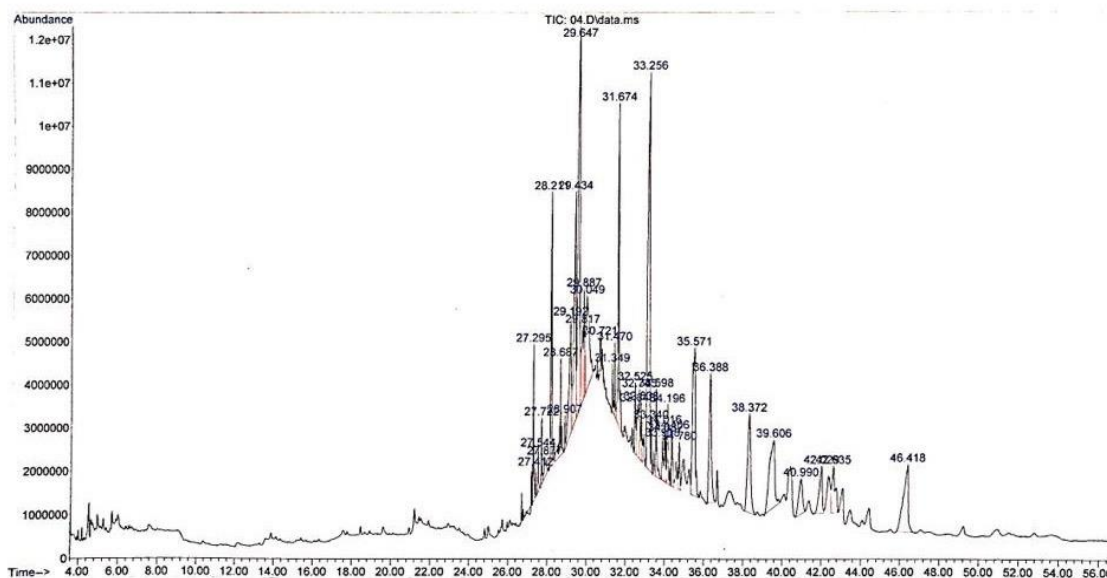


**Gambar 2.** Zona hambat ekstrak (a) *E. coli*, (b) *S. aureus*

Identifikasi senyawa *A. malaccensis* menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)* ditunjukkan pada Gambar 3 dan Tabel III.

Hasil yang diperoleh terdapat 23 kandungan senyawa kimia. Kandungan senyawa dengan komponen terbesar ekstrak etanol daun *A. malaccensis* adalah *Squalene*, *Phytol*, *Heneicosane*, *9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester*, *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester*, *beta. -Sitosterol*, *ICOSANE*, *Vitamin E*, dan *Hexadecanoic acid, methyl ester*. *Squalene* termasuk ke dalam senyawa terpenoid (triterpenoid) (Huang *et al.*, 2009). *Phytol* dan *squalene* adalah senyawa triterpene yang berperan sebagai antibakteri, antioksidan, dan diuretik dan (Sudha *et al.*, 2013). *Squalene* digunakan sebagai bahan untuk kosmetik dan obat.

File :C:\msdchem\1\data\211125-A\04.D  
 Operator : mtp  
 Acquired : 25 Nov 2021 13:51 using AcqMethod BALITRO.M  
 Instrument : GC MS\_F  
 Sample Name : 2.3/2079 Ekstrak Etanol 96% Daun Gaharu  
 Misc Info :  
 Vial Number: 3



**Gambar 3.** Kromatogram GC-MS ekstrak etanol daun *A. malaccensis*

**Tabel III.** Komponen senyawa ekstrak etanol daun *A. malaccensis*

No.	RT	Quality	Senyawa	Area (%)
1.	27.293	96	<i>NEOPHYTADIENE</i>	1,75
2.	28.210	99	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester</i>	4,02
3.	28.686	95	<i>HEXADECANOIC ACID, METHYL ESTER</i>	1,57
4.	29.189	99	<i>HEXADECANOIC ACID</i>	3,46
5.	29.437	98	<i>9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester</i>	5,85
6.	29.644	91	<i>Phytol</i>	11,99
7.	29.817	70	<i>Sorbitol</i>	2,31
8.	29.886	50	<i>Eicosanoic acid</i>	1,30
9.	30.051	56	<i>HEXADECANOIC ACID</i>	4,71
10.	31.672	91	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester</i>	5,57
11.	32.527	95	<i>TETRACOSANOIC ACID, METHYL ESTER</i>	1,05
12.	32.651	93	<i>(9E)-9-OCTADECENOIC ACID</i>	1,48

No.	RT	Quality	Senyawa	Area (%)
13.	33.257	94	<i>Squalene</i>	12,39
14.	33.595	97	<i>ICOSANE</i>	1,26
15.	34.195	93	<i>Geranylgeraniol</i>	1,17
16.	35.574	97	<i>Heneicosane</i>	6,01
17.	36.388	99	<i>Vitamin E</i>	4,22
18.	38.374	98	<i>ICOSANE</i>	4,57
19.	39.608	91	<i>. beta. –Sitosterol</i>	5,43
20.	40	91	<i>4-1(1-CYCLOHEXENYL)-2-TRIMETHYLSILYLMETHYL-1-BUTEN-3-YNE</i>	1,93
21.	42.028	86	<i>ARISTOL-9-EN-8-ONE</i>	2,04
22.	42.635	98	<i>Vitamin E</i>	2,29
23.	46.421	50	<i>2-CYCLOHEXENE-1-METHANOL, 2,6,6-TRIMETHYL-5-(3-METHYL-2-BUTENYL)-, TRANS- (.+.-)-</i>	4,85

Senyawa *Icosane* juga memiliki aktivitas antibakteri (Hsouna *et al.*, 2011). *Heneicosane* (C<sub>21</sub>H<sub>44</sub>) menunjukkan aktivitas dalam menghambat bakteri *E. coli*, *Salmonella typhi* dan *S. aureus* (Vanitha *et al.*, 2020). Senyawa *9,12,15-octadecatrienoic acid, methyl ester* (C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) berperan sebagai antibakteri (Nishanthini *et al.*, 2011). *Beta. –sitosterol* merupakan mikronutrien alami yang biasa ditemukan pada sel dan membran tumbuhan yang memproduksi minyak, buah, biji-bijian dan pohon. *Beta – sitosterol* memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri meliputi *S. aureus* dan *E. Coli* (Mesfin *et al.*, 2016).

Vitamin E memiliki aktivitas sebagai antibakteri, dimana bekerja sebagai adjuvant antibiotik dalam pengobatan infeksi (Marwa *et al.*, 2018). Senyawa yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri adalah *hexadecanoic acid, methyl ester* yang termasuk golongan senyawa asam palmitate dan berpotensi sebagai antibiotik karena mampu menghambat beberapa bakteri seperti *Salmonella typhi*, *Shigella sp* dan *Enterococcus faecalis*. Senyawa kimia yang teridentifikasi memiliki aktivitas dalam menghambat bakteri.

#### IV. KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun *A. malaccensis* memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi 30%. Kandungan senyawa gaharu terbesar *Squalene*, *Phytol*, *Heneicosane*, *9,12,15-Octadecatrienoic acid*, *methyl ester*, *1,2-Benzenedicarboxylic acid*, *mono (2-ethylhexyl) ester*, *beta. -Sitosterol*, *ICOSANE*, *Vitamin E*, dan *Hexadecanoic acid*, *methyl ester*.

#### KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada FMIPA Universitas Syiah Kuala untuk penggunaan fasilitas laboratorium.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. (2004). Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. *Bioscientiae*, 1, 8-31.
- Ancela, R. L, Usman, P., & Evy R. (2015). Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa horan*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*, 2, 20-26.
- Anief, M. (2010). *Ilmu Meracik Obat* (UGM Press (ed.).
- Annisa, F. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Muda, Daun Tua dan Daun Campuran Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) Budidaya Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (Skripsi). Fakultas Kehutanan Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Eko, S., S., Nadhila, A., A., & Dwi, L. (2020). Perbandingan Ekstrak Lamur *Aquilaria Malaccensis* dengan Metode Maserasi dan Refluks. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2, 97-104.
- Hasnaeni, Wisdawati & Suriati U. 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika*. 5, 175-182.
- Hastari, R.(2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang
- Hsouna, A. B., Mohammed, T., Riadh, B. M. & Samir. (2011). J. Chemical Composition, Cytotoxicity Effect and Antimicrobial Activity of Ceratonia Siliqua Essential Oil with Preservative Effects Against Listeria Inoculated in Minced Beef Meat. *Int J Food Microbiol*, 148, 66-72.
- Huang, Z. R., Lin, Y. K., & Fang, J. Y. (2009). Review Biological and Pharmacological Activities of Squalene and Related Compounds: Potential Uses in Cosmetic. *Molecules*, 14, 540-554.
- Jihadi, N. I. M., Hashim, Rahima, N. A., Kamal, K. M., Noor, N. M., Sani, M. S. A., & Maifiah, M. H. M. (2020). Antibacterial Activity of Ethanolic Leaf Extract of *Aquilaria malaccensis* Against Multidrug-Resistant Gram-negative Pathogen. *Food Research*, 4, 1962-1968.
- Mesfin, M. O., Manash, K. C., & Ahmed, H. D. (2016). Structure elucidation of  $\beta$ -sitosterol with antibacterial activity



- from the root bark of *Malva parviflora*. Springer Plus, 5, 1-11.
- Morales, G., Sierra, P., Mancilla., Parades, A., Loyola LA, Gallardo O, Borquez J. (2003). Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile, Antimicrobial Activity, and Biototoxicity against *Artemia salina*. Journal Chile Chem. 48 (2).
- Nishanthini, A., A. Agnel Ruba, V.R Mohan. (2012). Total Phenolic, Flavonoid Content and In Vitro Antioxidant Activity of Leaf of *Suaeda monoica* Forssk ex Gmel (*Cenopodiaceae*). International Journal of Advanced Life Sciences (IJALS).1, 34 – 43
- Novia, A., Dwi, R., & Rakmadhan, N. (2020). Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in Vitro. Jurnal Pharmascience, 7, 107-105.
- Rahmawati, N., Edhy, S., & Eko, W. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan, 24, 24-31.
- Ridwanti, B., Basuki, W., Amir, H. S., Urip, H., & Tamrin. 2021. Bioactive Compounds of Ethanol Extract from Agarwood Leaves (*Aquilaria Malaccensis*) and Antimicrobial Activity Against Bacteria and Fungi Growing on the Skin. Biodiversitas, 22, 2884-2890.
- Sudha, T., Chidambarampillai S., & Mohan, V. R. 2013. GC-MS Analysis of Bioactive Components of Aerial Parts of *Kirganelia Reticulata* Poir (*Euphorbiaceae*). Curr. Chem. Pharm. Sc, 3, 113-122.
- Sumarna, Y. (2002). Budi Daya Gaharu. Swadaya. Jakarta.
- Vanitha, S., Vijatakumar, M., Nilavukkarasi, V. N., Punitha, E., Vidhya, & Praseetha, P.K. 2020. Heneicosane A novel microbicidal bioactive alkane identified from *Plumbago zeylanica* L. Industrial Crops and Product. 2(2): 154-157.
- WHO. (2011). Quality control methods for herbal materials.