

UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI GONDORUKEM (*Resina Colophonium*) TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* DAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Erlinawati Santoso¹, Rollando², Muhammad Hilmi Afthoni³, Yurida Ekawati⁴

Universitas Ma Chung, Universitas Ma Chung, Universitas Ma Chung

Email Korespondensi: 611810011@student.machung.ac.id , ro.llando@machung.ac.id , Muhhammad.hilmi@machung.ac.id , yurida.ekawati@machung.ac.id

Abstrak

Hasil hutan yang memiliki potensi besar dalam pemanfaatannya adalah pohon *Pinus Merkusii*. Pohon pinus yang di sadap dan destilasi menghasilkan Gondorukem. Gondorukem memiliki manfaat untuk korek api, mengurangi stress. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri Gondorukem terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Pada tahap pertama dilakukan ekstraksi dan maserasi dengan petroleum eter dan etanol, dilakukan uji disk difusi dengan variasi konsentrasi ekstrak 2000 ppm; 1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm dan kontrol positif ampicilin, kontrol

Kata kunci: *Escherichia coli*, *Gas Chromatography-Mass* (GC-MS), Gondorukem, *Staphylococcus aureus*, *In Silico*

Abstract

The forest product that has great potential in its utilization is the *Pinus Merkusii* tree. Pine trees are tapped and distilled to produce Gondorukem. Gondorukem can be useful for making matches and reducing stress. This study aims to determine the antibacterial activity of Gondorukem against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

This research is an experimental laboratory research. In the first stage, extraction and maceration were carried out with petroleum ether and ethanol. After that, a disk diffusion test was carried out with a variation of the extract concentration of 2000 ppm; 1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm and ampicillin positive control, aquades negative control. Next, macrodilution was carried out with eppendorf, analysis with *Gas Chromatography-Mass* (GC-MS) to determine the active compounds contained in the fraction. *In Silico* test for proteins 1CEF, 1CEG, IITV, and 4D0Y.

The results of the *in vitro* test of the diameter of the largest inhibition zone were found in the petroleum ether fraction of *Staphylococcus aureus* bacteria of 13.92 mm. *Palustric acid*, *Abietic acid*, and *delta.8(14)-Isopimaric acid* have good interactions with 1CEF, 1CEG, IITV, and 4D0Y proteins.

Keywords: *Escherichia coli*, *Gas Chromatography-Mass* (GCMS) Gondorukem, *Staphylococcus aureus*, *In Silico*.

negatif akuades. Selanjutnya, dilakukan makrodilusi dengan pengamatan kejernihan larutan untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan penggoresan ke media agar untuk penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum, dan dilakukan pengujian dengan *Gas Chromatography-Mass* (GC-MS) untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada fraksi dan dilakukan uji *In Silico* pada protein 1CEF, 1 CEF, IITV, dan 4D0Y.

Hasil pengujian *in vitro* diameter zona hambat paling besar terdapat pada fraksi petroleum eter. Bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 13,92 mm. *Palustric acid*, *Abietic acid*, dan *delta.8(14)-Isopimaric acid* mempunyai interaksi yang baik dengan protein 1CEF, 1CEG, IITV, dan 4D0Y.

daya alam terbanyak, sektor kehutanan di Indonesia salah satunya. Saat ini sedang marak penggunaan produk kayu yang penggunaannya juga di maksimalkan. Hasil hutan yang memiliki potensi besar dalam pemanfaatannya adalah pohon *Pinus Merkusii*. Hutan pinus merupakan hutan yang memiliki potensi dan beragam fungsi, salah satunya sebagai penjaga keseimbangan lingkungan bila manusia dapat mengelola dengan benar. *Pinus Merkusii* merupakan jenis pohon serbaguna dan dikembangkan serta diperluas dalam budidaya pada saat ini dan masa yang akan datang untuk penghasil kayu, konservasi lahan, dan getah (Lateka dkk., 2019).

Beberapa bagian tanaman pohon pinus dapat dimanfaatkan, antara lain Getah yang terdapat dari batang pohon pinus dapat disadap dan diambil getahnya, beberapa cara penyadapan getah antara lain; sistem koakan, sistem koprak, dan sistem bor. Setelah disadap dilakukan pemurnian getah dan destilasi, getah pinus yang didestilasi menghasilkan gondorukem dan terpentin. Gondorukem atau yang biasa disebut gum rosin adalah hasil industri pengolahan produk non kayu dari pohon pinus. Gondorukem berbentuk kristal berwarna kuning jernih sampai kuning tua, dan digunakan untuk pembuatan minyak resin, pembuatan vernis, bahan pembuatan cat, plitur kayu, cat, batik. Terpentinnya dimanfaatkan untuk bahan industri, obat-obatan, dan parfum, hasil kayu pohon pinus dimanfaatkan untuk konstruksi, kertas serat, korek api kayu, triplek dan hasil kulit nya dapat dimanfaatkan untuk bahan bakar serta abunya dapat

I PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan sumber

dimanfaatkan sebagai campuran pupuk karena mempunyai kandungan kalium (Siregar, 2005).

Bakteri merupakan makhluk hidup mikroskopis bersel tunggal atau *uniseluler*. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki sifat patogen tetapi merupakan bakteri normal yang terdapat pada saluran pencernaan tubuh hewan dan manusia jika dalam keadaan yang cukup, bila bakteri yang ada dalam tubuh manusia terlalu berlebihan akan menyebabkan kasus diare. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang memiliki sifat patogen dan termasuk bakteri gram positif dengan bentuk bulat bergerombol, tidak beraturan mirip dengan bentuk buah anggur. Infeksi yang diakibatkan bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki tanda seperti kerusakan jaringan disertai abses bemanah. Adapun contoh penyakit infeksiya adalah jerawat, bisul, infeksi pada luka, pneumonia, meningitis.

Antibakteri merupakan zat yang menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri. Mekanisme kerja bakteri yaitu bakterisida dan bakteriostatika. Bakterisida merupakan antibakteri yang bersifat membunuh bakteri dan bakteriostatika merupakan antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri.

Pengujian antibakteri pada Gondorukem dilakukan secara *in vitro* agar dapat ditentukan zat antibakterinya. Pengujian antibakteri dapat diketahui aktivitasnya melalui nilai konsentrasi hambat minimum atau KHM dan Konsentrasi Bunuh Minimum atau KBM. Pengujian *in silico* dengan *molecular docking* digunakan untuk memperkirakan aktivitasnya pada sel target dengan cara menyetarakan ligan dari molekul kecil dalam sel target dari molekul protein besar.

Senyawa – senyawa aktif dari gondorukem yang diperoleh dari hasil penelitian akan bermanfaat untuk bidang farmasi dan bidang industri. Oleh sebab itu, penulis melakukan penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Gondorukem (*Resina Colophonium*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*”.

II. MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

A. Material

Erlenmeyer (Pyrex), Gelas beker (Pyrex), Gelas ukur (Pyrex), Vial, Cawan petridish, Pengaduk L, Tabung reaksi, Batang pengaduk, Ose, Pinset, Bunsen, Kertas cakram, Toples kaca, *Orbital Shaker*, *Vacuum Rotary Evaporator* (IKA),

Waterbath (Memmert), Autoklaf

(All American), Mikropipet (DragonLab), Tabung Eppendorf 1,5mL, Spektrofotometer UV-VIS, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)*. Petroleum eter, Ethanol 96%, Nutrient Agar (Oxoid), Nutrient Broth (Merck), DMSO 20 % (Emsure), *Mueller Hinton Broth*, Bakteri *Escherichia Coli*, Bakteri *Staphylococcus aureus*, Disc Ampicilin 10 µg (Oxoid), Aquades

Perangkat keras *personal computer* dengan spesifikasi Windows 10 pro, AMD Ryzen™ 5 3500U, Mobile Processor (4C/8T, 6MB cache, 3.7GHz Boost), Radeon™ Vega 8 Integrated Graphics with R5 processor, memori 8GB / 16GB 2400MHz DDR4

B. Metode Penelitian 1. Jenis Penelitian

Metode yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium. Metode eksperimental merupakan metode penelitian kuantitatif yang digunakan untuk memberi ilmu pengetahuan pengaruh variable independent atau perlakuan terhadap variabel dependent atau hasil didalam keadaan yang terkendali. Pada penelitian ini ditujukan untuk menemukan kandungan senyawa dan aktivitas antibakterinya.

2. Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan Gondorukem yang diperoleh dari Kota Kediri, Jawa Timur, Indonesia. Sampel yang digunakan adalah hasil ekstrak dari Gondorukem dengan berbagai macam konsentrasi yang akan diberikan terhadap biakan bakteri

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus*

3. Metode Kerja a. Persiapan Sampel

Gondorukem dihancurkan menjadi ukuran partikel yang lebih kecil.

b. Proses Ekstraksi

Pada proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan perbandingan 1:4 yaitu serbuk : pelarut. Pelarut yang digunakan pada saat proses ekstraksi adalah petroleum eter dan etanol. Serbuk Gondorukem ditimbang sebanyak 250 gram kemudian dilarutkan dengan 1 Liter petroleum eter didalam toples kaca. Setelah pencampuran serbuk dan pelarut diaduk selama 1 jam kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam kemudian hasil ekstraksi dengan petroleum eter disimpan dalam toples kaca sedangkan sebagian Gondorukem yang tidak larut di ekstraksi dengan etanol sebanyak 1 Liter. Didapatkan 2 hasil ekstrak yaitu dari ekstrak petroleum eter dan ekstrak etanol. Pada masing-masing ekstrak dilakukan proses evaporasi menggunakan

Vacuum Rotary

Evaporator hingga mengental, lalu diuapkan dengan waterbath hingga menjadi ekstrak kering dari petroleum eter dan ekstrak kental dari etanol.

c. Pembuatan Media

Untuk pembuatan media padat diperlukan 28 gram nutrient agar kemudian dilarutkan dalam aquades sebanyak 1 liter, lalu dipanaskan sampai bahan larut seluruhnya. Pembuatan media cair diperlukan 13 gram nutrient broth kemudian dilarutkan dalam aquades sebanyak 1 liter, diaduk hingga larut. Pembuatan media *Mueller Hinton Broth* diperlukan 21 gram dan dilarutkan dalam

1 liter akuades

d. Proses Sterilisasi

Semua alat yang akan digunakan dalam proses pengujian dicuci hingga bersih dan dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas, adapun alat yang disterilisasi seperti cawan petri, tabung reaksi, vial, gelas ukur, tip, gelas beker, kertas cakram, dan larutan DMSO. Proses sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi juga dilakukan untuk *Laminar Air Flow* dengan cara membersihkan menggunakan alkohol 70% dan menyalakan lampu UV. Setelah sterilisasi selesai, semua alat yang akan digunakan juga disimpan dalam *Laminar Air Flow* (Nema & Ludwig, 2019).

e. Pemiakan Bakteri

Digunakan metode streak plate untuk mengisolasi koloni mikroba pada cawan sehingga didapatkan koloni terpisah dengan cara menggoreskan bahan yang mengandung mikroba pada permukaan medium agar yang sesuai pada cawan petri. Setelah diinkubasi maka akan ada bekas goresan yang ditumbuhi koloni-koloni. Dengan menggunakan ose untuk menggores permukaan media agar dalam cawan petri, mengambil kultur bakteri, digoreskan pada permukaan media agar dimulai pada satu ujung dengan memperhatikan teknik penggoresan. Selanjutnya, ose disentuh pada permukaan media agar dalam cawan petri dan inkubasikan secara terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam dan amati pertumbuhannya. Pemiakan bakteri dengan metode biakan cair menggunakan media nutrient broth dengan memegang, panaskan ose dalam api sampai berpijar, tunggu sampai tidak terlalu panas, lalu masukkan ose ke dalam tabung biakkan sampai ujung ose basah, ambil media NB dan panaskan mulut labu media, lalu masukkan ujung ose yang telah dibasahi suspensi bakteri tadi. Setelah jarum diangkat, panaskan kembali mulut labu baru kemudian ditutup dan

diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

f. Pengujian DMSO 20%

Disiapkan cawan petri sebagai tempat uji aktivitas antibakteri, kemudian dalam gelas ukur dituang sebanyak 9 mL Nutrient Agar + 1 mL

biakan bakteri yang telah disuspensikan dalam media Nutrient Broth. Media yang sudah tercampur dengan bakteri dituangkan kedalam cawan petri dan ditunggu hingga mengeras. Disiapkan larutan DMSO 20% yang akan dilakukan. Siapkan kertas cakram dan tetesi dengan larutan DMSO 20% dan pipet sebanyak 8 µl dan ditempelkan pada media agar. Langkah selanjutnya dilakukan dengan inkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam

g. Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Terdapat 2 ekstrak yaitu ekstrak ethanol dan ekstrak petroleum eter yang masing-masing dibuat dalam konsentrasi 2000 ppm; 1000 ppm; 500ppm ; 250 ppm, 125 ppm. Larutan dibuat dengan menimbang ekstrak sebanyak 20 mg ; 10 mg ; 5 mg ; 2,5 mg ; dan 1,25 mg dengan menggunakan larutan DMSO 20% dalam labu ukur 10 ml.

h. Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol negatif menggunakan aquades dengan volume kertas disc sebanyak 8 µL sedangkan untuk kontrol positif menggunakan disc ampicillin 10 µg.

i. Prosedur Pengujian Antibakteri

- Metode Disc Diffusion

Disiapkan cawan petri sebagai tempat uji aktivitas antibakteri, kemudian dalam gelas ukur dituang sebanyak 9 mL Nutrient Agar + 1 mL biakan bakteri yang telah disuspensikan dalam media Nutrient Broth. Media yang sudah tercampur dengan bakteri dituangkan kedalam cawan petri dan ditunggu hingga mengeras. Disiapkan larutan yang akan dilakukan uji untuk konsentrasi 2000 ppm; 1000 ppm; 500ppm ; 250 ppm, 125 ppm. Siapkan kertas cakram dan tetesi dengan larutan yang akan diujikan dan pipet sebanyak 8 µl dan ditempelkan pada media agar. Langkah selanjutnya dilakukan dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri terbesar ditunjukkan oleh luas diameter *clear zone* yang dibentuk dari setiap konsentrasi. Konsentrasi terkecil dari zat antibakteri yang mampu menghambat bakteri yang diinokulasikan dengan terbentuknya zona bening adalah nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

- Metode Makrodilusi

Metode makrodilusi dilakukan untuk mendapatkan Kadar Hambat Minimum (KHM). Dilakukan pembuatan seri konsentrasi larutan uji 1000 mg/L, 2000 mg/L, dan 3000 mg/L dengan pelarut DMSO 20%. Kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan media *Mueller Hinton Broth* (MHB) steril dengan konsentrasi yang dapat dilihat pada tabel 3.1. Dilakukan pencampuran larutan dalam tabung

Eppendorf yang terdiri dari 250 µL larutan uji; 250 µL

suspensi bakteri dengan kekeruhan setara dengan standar McFarland 0,5; dan 1 ml media MHB. Sedangkan untuk kontrol positif menggunakan 250 μ L larutan ampicillin 10 mg/mL; 250 μ L suspensi bakteri; dan 1 ml media MHB. Untuk kontrol negatif menggunakan 250 μ L DMSO 20 %; 250 μ L suspensi bakteri; dan 1 ml media MHB. Hasil dari pengujian ini dapat diamati setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Penentuan nilai KHM dapat ditunjukkan sebagai konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan larutan yang berwarna jernih. Untuk penentuan KBM dilakukan dengan mengambil cairan pada tabung Eppendorf menggunakan kawat ose dan di streak diatas media NA dalam cawan petri. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu

37°C. Nilai KBM ditentukan dengan tidak tumbuhnya bakteri yang ada dalam cawan petri

j. Pengujian GC-MS

Setelah melakukan pengujian antibakteri, maka didapatkan dapat fraksi yang paling aktif sebagai zat antibakteri. Fraksi yang paling aktif dilakukan pengujian dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) untuk mengetahui apa saja senyawa yang terdapat didalam fraksi

k. Pengujian In Silico

Setelah mendapatkan senyawa dari hasil uji GC-MS dilakukan pengujian *In Silico* dengan cara penambatan molekul. Dilakukan penyortiran senyawa dan pengunduhan struktur kimia dari senyawa hasil GC-MS yang diperoleh melalui website <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Di dalam website pubchem setelah memasukkan nama senyawa yang dicari akan terdapat beberapa informasi mengenai senyawa tersebut (rumus kimia, bobot molekul, nama IUPAC, isomeric SMILES), unduh struktur kimia dengan bentuk 3D dan *download* dalam format sdf. Protein yang digunakan untuk penambatan molekul di *download* pada website PDB <https://www.rcsb.org/> simpan menggunakan format .pdb. lalu buka aplikasi PyMOL dan dilakukan proses preparasi dengan protein yang digunakan serta dilakukan penghilangan molekul air dengan klik huruf A pada kanan layar dan klik *remove waters* lalu cek dengan klik huruf S pada bagian kanan bawah layar untuk melihat apakah dalam *sequence* terdapat *missing residu* atau tidak. Jika tidak ada *missing residu* maka klik *file, export molecul*, pada bagian *selection* pilih sele dan *save* dalam format pdb. Setelah itu dilanjutkan dengan membuka aplikasi PyRx. Klik *file* dan *open file* protein yang sebelumnya telah disiapkan dalam aplikasi

PyMOL. Klik kanan pilih *autodock*, klik *make to macromolecul*. Lalu, masukkan kontrol (ligan) dengan klik *open babel*, masukan senyawa yang akan digunakan, klik kanan pilih *minimize all*, klik kanan pilih *convert all to autodock pdbqt*. Selanjutnya klik *vina wizard* dimasukkan protein dan ligan yang akan digunakan, klik *forward* kemudian atur ukuran kotak pada ligan yang digunakan. Ganti *exhaustivines* 16 kemudian di save dengan format pdbqt. Interaksi yang dihasilkan dapat dilihat pada tabel setelah selesai dilakukan proses docking. Setelah itu dipilih nilai ΔG yang memiliki nilai terkecil pada setiap interaksi. Apabila nilai ΔG semakin kecil maka semakin stabil dan semakin kuat ikatan yang terjadi antara ligan dan resptor, kemudian di save dengan format pdb. Hasil dari docking pada aplikasi PyRX dilakukan preparasi menggunakan aplikasi PyMOL dengan menggabungkan protein dan hasil docking pada PyRX kemudian simpan dengan format pdb. Setelah itu buka aplikasi *Discovery Studio 2021*, buka hasil penggabungan kemudian pilih *receptor-ligan interactions* kemudian klik *ligan interaction* lalu klik *show 2D Diagram*. Setelah itu dapat dilihat hasil dari interaksi-interaksi antara ligan dan protein.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN A. Hasil Ekstraksi

Gondorukem yang digunakan dalam proses ekstraksi sebelumnya dilakukan proses penghancuran, tujuan dilakukan proses penghancuran agar sampel menjadi partikel yang lebih kecil dan untuk memudahkan dalam proses ekstraksi. Proses ekstraksi bertujuan untuk pemisahan senyawa aktif. Pada ekstraksi menggunakan metode ekstraksi maserasi. Pada proses maserasi, sampel disimpan di dalam wadah tertutup, dilakukan pengadukan selama 60 menit dan dibiarkan mengalami kontak dengan pelarut selama 24 jam dalam suhu ruang. Selanjutnya, hasil ekstraksi etanol 96% dan petroleum eter dilakukan pemekatan menggunakan *Vacuum Rotary Evaporator*. Proses pemekatan ini bertujuan untuk memisahkan suatu pelarut atau *solvent* dari larutan uji. Dilakukan proses penguapan menggunakan waterbath dengan suhu 60°C yang bertujuan untuk membuat ekstrak menjadi lebih kental atau kering. Hasil fraksi petroleum eter sebesar 163,209 gram atau rendemen sebesar 79,614 % (b/b) dengan karakteristik kristal padat, keras, berwarna kuning (Gambar 1). Hasil fraksi etanol 96% sebesar 23,353 gram atau rendemen sebesar 9,341% (b/b)

dengan karakteristik

kental, berwarna coklat kekuningan (Gambar 2)



Gambar 1. Ekstrak Petroleum Eter



zona hambat DMSO 20% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah 0 mm (Gambar 4.3) yang berarti penggunaan pelarut DMSO 20% tidak memiliki pengaruh pada pengamatan uji aktivitas antibakteri.



Gambar 3. Disk Difusi DMSO 20%

C. Hasil Pengujian Disc Difusi

Pengujian disk difusi dilakukan pada variasi konsentrasi ekstrak petroleum eter, ekstrak etanol, kontrol positif (*ampicilin* 10 μ g) dan kontrol negatif (DMSO 20%) yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media agar yang

B. Hasil Uji Pelarut DMSO 20% Pelarut yang digunakan untuk melarutkan fraksi fraksi petroleum eter dan fraksi etanol adalah DMSO 20%. DMSO atau *Dymethyl Sulfoxide* merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik senyawa polar maupun non polar. Dilakukan pengujian disk difusi untuk DMSO 20% yang bertujuan mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari pelarut DMSO 20%. Hasil

sudah diinkubasi, lalu dilakukan pengukuran zona bening menggunakan penggaris dan dinyatakan dengan satuan milimeter. Terbentuknya zona bening pada media dapat menandakan bahwa konsentrasi larutan uji menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang dinyatakan dengan luas zona hambat, dimana semakin besar luas zona bening maka semakin besar juga aktivitas antibakterinya.

Pengamatan menunjukkan bahwa fraksi etanol dan fraksi petroleum eter pada konsentrasi 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm memiliki aktivitas antibakteri. Pada Fraksi Etanol dengan bakteri *Escherichia coli* memiliki zona bening sebesar 9,83 mm, Fraksi Etanol dengan bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki zona bening sebesar 11,17 mm, Fraksi petroleum eter dengan bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki zona bening sebesar 13,92 mm, dan Fraksi petroleum eter dengan bakteri *Escherichia coli* memiliki zona bening sebesar 7,46 mm (Lampiran B). Pada uji ini disimpulkan bahwa Fraksi Petroleum eter dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* yang lebih baik dibandingkan dengan fraksi lainnya.

D. Makrodilusi

Pada pengujian ini, dilakukan pengukuran kekeruhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 698 nm, didapatkan hasil *Optical Density* atau OD sebesar 0,270622. Nilai *Optical Density* atau OD adalah nilai yang menunjukkan tinggi rendahnya pertumbuhan atau populasi bakteri dalam suatu media.

Setelah didapatkan nilai *optical density* larutan bakteri dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang bertujuan untuk mencari nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan diamati untuk melihat tingkat kejernihan. Indikator pengamatan tabung eppendorf adalah semakin jernih larutan yang terdapat dalam eppendorf maka akan semakin tinggi tingkat efektivitasnya sehingga dapat dilakukan penggosokan ke media agar untuk menentukan nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum).

Didapatkan hasil nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Pengujian makrodilusi, nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum untuk bakteri *Staphylococcus aureus* fraksi petroleum eter >2000 ppm sedangkan untuk fraksi etanol memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 1000 ppm dan Konsentrasi Bunuh Minimum sebesar >2000 ppm. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum untuk bakteri *Escherichia coli* sebesar >2000 ppm.

Tabel 1. Nilai KHM dan KBM Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Replikasi	Fraksi	KHM	KBM
<i>S.aureus</i>	1	P.eter	2000	>2000
		Etanol	1000	>2000
	2	P.eter	2000	>2000
		Etanol	1000	>2000
	3	P.eter	1000	>2000
		Etanol	2000	>2000

Tabel 2. Nilai KHM dan KBM Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri	Replikasi	Fraksi	KHM	KBM
<i>E.coli</i>	1	P.eter	2000	>2000
		Etanol	1000	>2000

2	P.eter	2000	>2000
	Etanol	1000	>2000
3	P.eter	1000	>2000
	Etanol	2000	>2000

E. Hasil Pengujian GC-MS

Kromatografi gas mempunyai pengaplikasian yang luas dapat dijadikan sebagai pemisahan dan analisa campuran berbagai macam komponen. Hasil analisis kromatografi gas pada ekstrak gondorukem dengan pelarut petroleum eter memiliki 50 peak. Dari 50 senyawa dipilih 10 senyawa untuk uji *In Silico* dengan parameter pemilihannya adalah nilai %area diatas 1%. Persen area merupakan nilai tingginya *peak* dalam kromatogram.

Tabel 3. Senyawa Pilihan untuk Uji *In silico*

R. tim e	Senyawa	Rumus Kimia	Area %
3.049	<i>Pentane, 3-methyl</i>	C ₆ H ₁₄	3.63
3.972	<i>Toluene</i>	C ₇ H ₈	19.61
4.390	<i>3-Penten-2-one, 4methyl</i>	C ₆ H ₁₀ O	34.06
5.095	<i>2-Pentanone, 4hydroxy-4methyl</i>	C ₆ H ₁₂ O ₂	3.95
11.346	<i>alpha.-Terpineol</i>	C ₁₀ H ₁₈ O	3.09
26.039	<i>(1R,4aR,4bS,7S,10aR)-1,4a,7-Trimethyl-7vinyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,10,10adodecahydrophenanthrene-1-carbaldehyde</i>	C ₂₀ H ₃₀ O	3.74
27.294	<i>delta.8(14)-Isopimaric acid</i>	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	3.73
27.785	<i>Palustric acid</i>	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	9.23
28.481	<i>Abietic acid</i>	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	2.58

Senyawa yang memiliki komponen terbanyak pada gondorukem dengan ekstrak petroleum eter terletak pada peak 4 yang memiliki nilai retensi area sebesar 34,06% dan senyawa yang terdapat pada peak

4 adalah 3-Penten-2-one, 4-methyl atau C₆H₁₀O.

F. Pengujian In Silico

Pengujian In Silico dilakukan dengan penambatan molekul. Penambatan molekul merupakan langkah penting dalam menentukan konformasi aktif suatu obat, yaitu konformasinya ketika terikat pada reseptor serta merupakan langkah penting untuk pengembangan senyawa yang diduga memiliki aktivitas biologis dan dapat menjadikan penuntun untuk pengembangan obat baru. Berdasarkan hasil pengujian GC-MS sebelumnya telah dipilih 10 senyawa yang akan digunakan dalam proses penambatan molekul dan dicari struktur senyawa di Pubchem dan dilakukan pengunduhan struktur 3D dengan format .sdf.

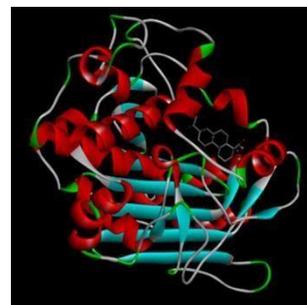
Setelah itu, dilakukan pencarian protein di website <https://www.rcsb.org>. Adapun kriteria dalam penentuan protein yang digunakan yaitu protein diharuskan tidak memiliki *missing residue* atau rantai terputus dan protein tersebut harus memiliki *native ligand*. Lalu box di atur pada situs aktif protein target yang bertujuan untuk mendapatkan hasil yang lebih baik atau visualisasi interaksi yang baik antara senyawa dan protein. Dilakukan juga pemilihan nilai kekuatan interaksi yang memiliki nilai *Root Mean Square Deviation* atau RMSD paling kecil dan dikatakan valid jika memiliki nilai RMSD ≤ 2Å. Hasil pemilihan senyawa dapat dilihat pada tabel 4.9. Pemilihan nilai RMSD ≤ 2Å dikarenakan nilai RMSD semakin kecil maka akan memiliki ikatan yang stabil serta aktivitas yang lebih kuat. (Ruswanto, 2015).

Tabel 4. Ranking Senyawa Terbaik Hasil Penambatan Molekul

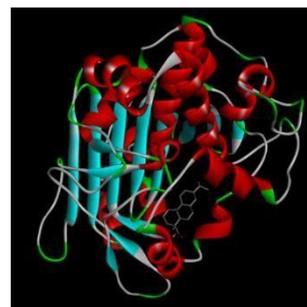
Senyawa	Protein	Binding Affinity
<i>Palustric acid</i>	1CEF	-7,9
<i>Abietic acid</i>	1CEF	-7,8
Ligan Kontrol	1CEF	-7,9
<i>Palustric acid</i>	1CEG	-7,8
<i>Abietic acid</i>	1CEG	-7,7
Ligan Kontrol	1CEG	-6,9
<i>Palustric acid</i>	1ITV	-5,7
<i>Abietic acid</i>	1ITV	-5,6
Ligan Kontrol	1ITV	-2,6
<i>Abietic acid</i>	4D0Y	-7
<i>delta.8(14)-Isopimaric acid</i>	4D0Y	-6,9

Ligan Kontrol	4D0Y	-3,4
---------------	------	------

1. Hasil Molekuler Docking 1CEF Protein 1CEF memiliki klasifikasi *HydrolaseTranspeptidase* yang digunakan untuk mengetahui kemampuan senyawa yang sebelumnya telah diuji dengan GC-MS. Dimana senyawa yang telah diuji dengan GC-MS memposisikan sebagai ligan dan terjadi interaksi dengan residu asam amino yang terdapat dalam molekul 1CEF. Pada tabel 4.9 dapat diketahui bahwa senyawa *Palustric acid* memiliki kekuatan interaksi sebesar -7,9 dan *Abietic acid* sebesar -7,8 dengan ligan kontrol yang menempel pada protein 1CEF memiliki energi sebesar -7,9.



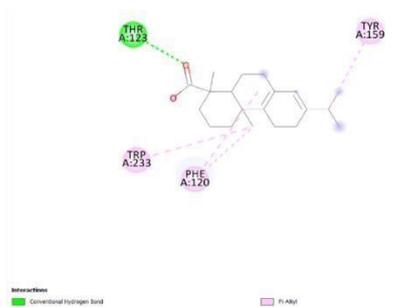
Gambar 3. Palustric acid dengan protein 1CEF



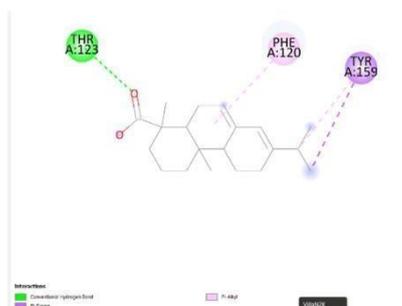
Gambar 4. Abietic acid dengan protein 2CEF

Pada visualisasi melalui aplikasi *Discovery Studio* ditunjukkan bahwa *Palustric acid* memiliki ikatan *hydrogen* dengan residu asam amino THR123 dan *Palustric acid* juga memiliki ikatan *hydrophobic* dengan residu asam amino PHE120, TYR159, TRP233. Hasil visualisasi pada *Abietic acid* memiliki ikatan *hydrogen* dengan residu asam amino THR123 dan *Abietic acid* juga memiliki ikatan *hydrophobic* dengan residu asam amino TYR159

dan PHE120. Nilai kekuatan inetaksi protein dengan *palustric acid* sama dengan protein dengan *native* ligan. Pada hasil ini dapat dilihat bahwa *palustric acid* memiliki afinitas yang sama dan mempunyai potensi sebagai inhibitor 1CEF.

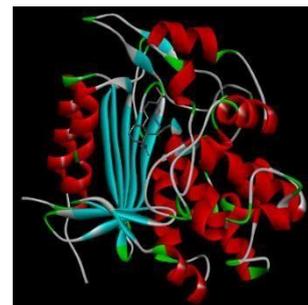


Gambar 5. Visualisasi 2D *Palustric acid* dengan protein 1CEF

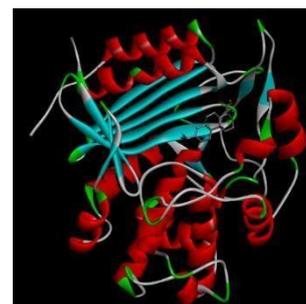


Gambar 6. Visualisasi 2D *Abietic acid* dengan Protein 1CEF

2. Hasil Molekuler Docking 1CEG Protein 1CEG memiliki klasifikasi HydrolaseTranspeptidase yang digunakan untuk mengetahui kemampuan senyawa yang sebelumnya telah diuji dengan GC-MS. Dimana senyawa yang telah diuji dengan GC-MS memposisikan sebagai ligan dan terjadi interaksi dengan residu asam amino yang terdapat dalam molekul 1CEG. Pada tabel 4.8 dapat diketahui bahwa senyawa *Palustric acid* memiliki kekuatan interaksi sebesar -7,8 dan *Abietic acid* sebesar -7,7 dengan ligan kontrol yang menempel pada protein 1CEF memiliki energi sebesar -6,9.

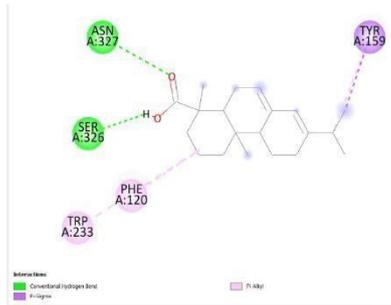


Gambar 7. *Palustric acid* dengan protein 3CEG

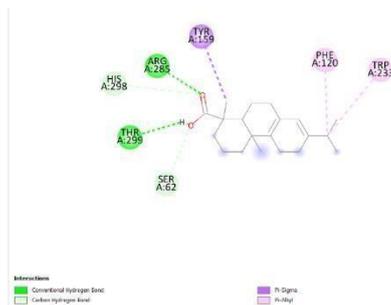


Gambar 8. *Abietic acid* dengan protein 4CEG

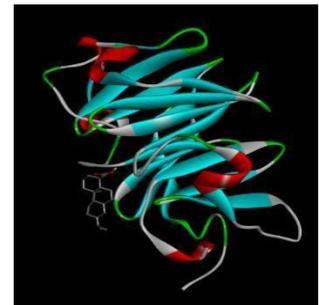
Pada visualisasi melalui aplikasi *Discovery Studio* ditunjukkan bahwa *Palustric acid* memiliki ikatan *hydrogen* dengan residu asam amino ARG285, THR299, SER62, dan HIS298. *Palustric acid* juga memiliki ikatan *hydrophobic* dengan residu asam amino PHE120, TYR159, TRP233. Hasil visualisasi pada *Abietic acid* memiliki ikatan *hydrogen* dengan residu asam amino ASN 327 dan SER326. *Abietic acid* juga memiliki ikatan *hydrophobic* dengan residu asam amino TYR159, PHE120, dan TRP233. Nilai kekuatan interaksi protein dengan *palustric acid* sama dengan protein dengan *native ligan* dan Nilai kekuatan interaksi protein dengan *Abietic acid* sama dengan protein dengan *native ligan*. Pada hasil ini dapat dilihat bahwa *Palustric acid* dan *Abietic acid* memiliki afinitas yang sama dan mempunyai potensi sebagai inhibitor 1CEG.



Gambar 9. Visualisasi 2D *Abietic acid* dengan Protein 1CEG



Gambar 10. Visualisasi 2D *Palustric acid* dengan protein 1CEG



Gambar 11. *Abietic acid* dengan protein 5ITV

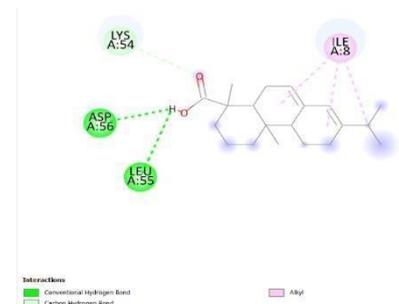


Gambar 12. *Palustric acid* dengan protein 6ITV

3. Hasil Molekuler Docking 1ITV

Protein 1ITV memiliki klasifikasi *Hydrolase* yang digunakan untuk mengetahui kemampuan senyawa yang sebelumnya telah diuji dengan GCMS. Dimana senyawa yang telah diuji dengan GCMS memposisikan sebagai ligan dan terjadi interaksi dengan residu asam amino yang terdapat dalam molekul 1ITV. Pada tabel 4.8 dapat diketahui bahwa senyawa *Palustric acid* memiliki kekuatan interaksi sebesar -5,7 dan *Abietic acid* sebesar -5,6 dengan ligan kontrol yang menempel pada protein 1CEG memiliki energi sebesar -2,6.

Pada visualisasi melalui aplikasi *Discovery Studio* ditunjukkan bahwa *Palustric acid* memiliki ikatan *hydrophobic* dengan residu asam amino ILE8. Hasil visualisasi pada *Abietic acid* memiliki ikatan *hydrogen* dengan residu asam amino LEU55, ASP56, dan LYS54. *Abietic acid* juga memiliki ikatan *hydrophobic* dengan residu asam amino ILE8. Nilai kekuatan interaksi protein dengan *palustric acid* sama dengan protein dengan *native* ligan. Nilai kekuatan interaksi protein dengan *Abietic acid* sama dengan protein dengan *native ligan*. Pada hasil ini dapat dilihat bahwa *Palustric acid* dan *Abietic acid* memiliki afinitas yang sama dan mempunyai potensi sebagai inhibitor 1ITV.



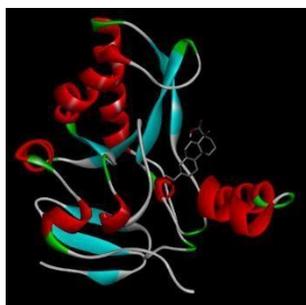
Gambar 14. Visualisasi 2D *Abietic acid* dengan Protein 1ITV



Gambar 15. Visualisasi 2D Palustric acid dengan protein IIV

4. Hasil Molekuler Docking 4D0Y

Protein 4D0Y memiliki klasifikasi *Hydrolase* yang digunakan untuk mengetahui kemampuan senyawa yang sebelumnya telah diuji dengan GCMS. Dimana senyawa yang telah diuji dengan GCMS memposisikan sebagai ligan dan terjadi interaksi dengan residu asam amino yang terdapat dalam molekul 4D0Y. Pada tabel 4.8 dapat diketahui bahwa senyawa *Abietic acid* memiliki kekuatan interaksi sebesar -7,0 dan *delta.8(14)Isopimaric acid* sebesar -6,9 dengan ligan kontrol yang menempel pada protein ICEF memiliki energi sebesar -3,4.

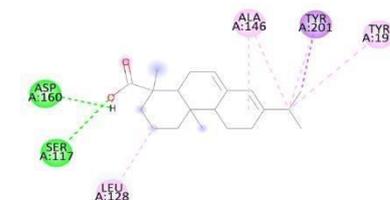


Gambar 16. Abietic acid dengan protein 4D0Y

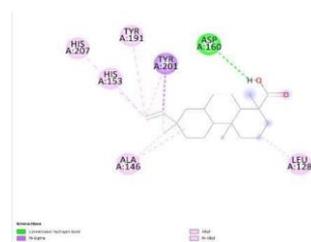


Gambar 16. delta.8(14)-Isopimaric acid dengan protein 4D0Y

aplikasi *Discovery Studio* ditunjukkan bahwa *Abietic acid* memiliki ikatan *hydrogen* dengan residu asam amino SER117 dan ASP160. *Abietic acid* juga memiliki ikatan *hydrophobic* dengan residu asam amino TYR201, ALA146, LEU128, dan TYR191. Untuk senyawa *delta.8(14)-Isopimaric acid* memiliki ikatan *hydrogen* dengan residu asam amino ASP160 dan *delta.8(14)-Isopimaric acid* juga memiliki ikatan *hydrophobic* dengan residu asam amino TYR201, ALA146, LEU128, HIS153, TYR191, dan HIS207. Nilai kekuatan interaksi protein dengan *delta.8(14)-Isopimaric acid* sama dengan protein dengan *native* ligan. Nilai kekuatan interaksi protein dengan *Abietic acid* sama dengan protein dengan *native* ligan. Pada hasil ini dapat dilihat bahwa *delta.8(14)-Isopimaric acid* dan *Abietic acid* memiliki afinitas yang sama dan mempunyai potensi sebagai inhibitor IITV.



Gambar 17. Visualisasi 2D Abietic acid dengan Protein 4D0Y



Gambar 17. Visualisasi 2D delta.8(14)-Isopimaric acid dengan Protein 4D0Y

IV. KESIMPULAN

Pengujian disk difusi fraksi etanol dan fraksi petroleum eter yang dilakukan mempunyai penggolongan aktivitas antibakteri pada tingkatan lemah. Konsentrasi tertinggi dengan diameter zona hambat Fraksi Petroleum Eter Bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 13,92 mm dan Fraksi Etanol Bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 11,17. Pengujian makrodilusi, nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi

Minimum untuk bakteri *Staphylococcus aureus* fraksi petroleum eter >2000 ppm sedangkan untuk fraksi etanol memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 1000 ppm dan Konsentrasi Bunuh Minimum sebesar >2000 ppm. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum untuk bakteri *Escherichia coli* sebesar >2000 ppm. Dalam pengujian GC-MS digunakan fraksi petroleum eter dikarenakan fraksi tersebut merupakan fraksi dan senyawa yang paling aktif. *Palustric acid*, *Abietic acid*, dan *delta.8(14)-Isopimaric acid* mempunyai interaksi yang baik dengan protein 1CEF, 1CEG, 1ITV, dan 4D0Y. Sehingga *Palustric acid*, *Abietic acid*, dan *delta.8(14)-Isopimaric acid* dapat berpotensi sebagai senyawa antibakteri dalam penambatan molekul.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Lateka, J. A., Manurung, T., & Prang, J. D. 2019. Analisis Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Produksi Getah Pinus di Kabupaten Poso. *D'CARTESIAN*, 8(2), 127.
- Nema, S., & Ludwig, J. D. (2019). *Parental Medications*.
- Ruswanto, R. (2015). Molekuler Docking Empat Turunan Isonicotinohydrazide Pada Mycobacterium Tuberculosis Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 13(1).
- Siregar, E. B. M. (2005). Pemuliaan Pinus Merkusii. *EUSU Repository*, 1–11.