

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI POLAR, SEMIPOLAR, DAN
NONPOLAR EKSTRAK ETANOL DAUN BUNI (*Antidesma bunius* (L.)
Spreng) TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Pseudomonas aeruginosa*
SENSITIF SERTA BIOAUTOGRAFINYA**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**FATMA KUMALASARI
K 100 100 090**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

Berjudul:
**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI POLAR, SEMIPOLAR
DAN NONPOLAR EKSTRAK ETANOL DAUN BUNI (*Antidesma
bunius* (L.) Spreng) TERHADAP *Escherichia coli* DAN
Pseudomonas aeruginosa SENSITIF SERTA
BIOAUTOGRAFINYA**

Oleh:
FATMA KUMALASARI
K 100 100 090

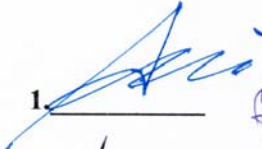



**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada tanggal : 10 Januari 2014**

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,


Arifah Sri Wahyuni, M.Sc., Apt

Penguji:

1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt
2. Ratna Yuliani, M.Biotech.St
3. Dr. Haryoto, M.Sc
4. Andi Suhendi, S.Farm., Apt

1. 
2. 
3. 
4. 

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI POLAR, SEMIPOLAR, DAN NONPOLAR
EKSTRAK ETANOL DAUN BUNI (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) TERHADAP
Escherichia coli DAN *Pseudomonas aeruginosa* SENSITIF SERTA
BIOAUTOGRAFINYA**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF POLAR, SEMIPOLAR, AND NONPOLAR
FRACTIONS OF ETHANOL EXTRACT OF BUNI LEAVES (*Antidesma bunius* (L.)
Spreng) ON *Escherichia coli* AND *Pseudomonas aeruginosa* BIOAUTOGRAPHY**

Fatma Kumalasari, Haryoto, Andi Suhendi

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Ahmad Yani, Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura 57162
Email : fatmakumalasari@rocketmail.com

ABSTRAK

*Daun buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) antara lain mengandung terpenoid, tanin, glikosida, saponin dan antrakuinon yang merupakan senyawa yang bersifat antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun buni fraksi polar, semipolar dan nonpolar terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan mengetahui senyawa yang berperan sebagai antibakteri. Fraksinasi dilakukan menggunakan metode kromatografi cair vakum dengan fase diam silika serbuk G₆₀ dan fase gerak kloroform:heksan dengan gradien kepolaran bertingkat (6:4; 7:3; 8:2; 9:1), kloroform:etil asetat (8:2), dan metanol. Metode difusi sumuran digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri dengan menggunakan media Mueller Hinton, kontrol negatif DMSO dan kontrol positif streptomisin 0,1 mg per sumuran. Konsentrasi ekstrak berturut-turut 1 mg; 2 mg; 3 mg; 5 mg dan 7 mg per sumuran. Uji KLT untuk mengetahui kandungan senyawa pada masing-masing fraksi ekstrak buni, dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3). Analisis bioautografi dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang bersifat antibakteri. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun buni tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* baik dari fraksi polar, semipolar dan nonpolar. Uji bioautografi tidak menunjukkan zona hambat yang berarti tidak ada senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri.*

Kata kunci: Ekstrak buni, KCV, fraksinasi, antibakteri.

ABSTRACT

*Buni leaf (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) contains, among the others, terpenoid, tannin, glycoside, saponin, and antrakuinon with antibacterial properties. Purposes of the research are to know antibacterial activity of polar, semi-polar, and nonpolar fractions of ethanol-extracted buni leaf against growth of *Escherichia Coli* and *Pseudomonas aeruginosa* and to know compounds with antibacterial activity.*

Fractionation is conducted by using vacuum-liquid chromatography method with powder silica G₆₀ as stationary phase and chloroform-hexane as mobile phase and tier gradients of polarity (6:4; 7:3; 8:2; 9:1), chloroform:ethyl acetate (8:2), and methanol. Hole plate diffusion method is used to examine antibacterial activity with Mueller Hinton media, DMSO as negative control and streptomycin of 0.1 mg per hole as positive control. Concentrations of the extract are 1 mg; 2 mg; 3 mg; 5 mg, and 7 mg per hole, respectively. Thin Layer Chromatography is performed to know compounds content of each fraction of buni extract, with silica gel GF₂₅₄ as stationary phase and n-hexane:ethyl-acetate (7:3) as mobile phase. Bioautographic analysis is conducted in order to know compounds content with antibacterial properties.

*Results of analysis indicated that polar, semi-polar and nonpolar fractions of ethanol-extracted buni leafs were not able to block growth of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Bioautography test did not show a significant blocking zone and no compound with antibacterial property.*

Keywords: Buni extract, VLC, fractionation, antibacterial.

PENDAHULUAN

Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) adalah tanaman yang biasa digunakan sebagai tanaman peneduh karena tekstur dedaunannya yang rindang. Pohon buni sering dianggap

sebagai tanaman liar karena pemanfaatannya yang kurang (Sutarni, 1997). Secara tradisional buni digunakan untuk mengobati darah tinggi, sifilis, jantung berdebar, kurang darah (Wijayakusuma *et al*, 2002) dan kanker (Micor *et al*, 2005).

Penelitian beberapa tumbuhan yang termasuk dalam marga *Antidesma* menunjukkan adanya efek antibakteri (Narod *et al*, 2004), efek antiinflamasi, diuretik (Rizvi *et al*, 2005), efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 dan sel SF-268 (Puspitasari, 2009 *cit* Chen, 2004). Panichayupakaranant dan Sakunpak (2012) menyatakan bahwa ekstrak buah *Antidesma ghaesembilla* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella thypi*, *Shigella sonnei* dan *Helicobacter pylori*. Penelitian Narod *et al* (2004) juga menyatakan bahwa pada ekstrak batang dan daun *Antidesma madagascariense* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus aureus*, *Candida albicans*, *Salmonella thypimurium* dan *Aspergillus niger*.

Penyakit infeksi saat ini sering dijumpai dalam kehidupan sehari-hari. Bakteri penyebab infeksi yang sering dijumpai antara lain *Pseudomonas aeruginosa* yang dilaporkan menyebabkan infeksi saluran kemih serta menyerang aliran darah yang mengakibatkan sepsis (Jawetz *et al.*, 2001) dan *Escherichia coli* yang merupakan penyebab penyakit pneumonia, endokarditis, abses pada berbagai organ (Entjang, 2003), dan bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi saluran kemih dan diare (Jawetz *et al.*, 2005). Pengobatan infeksi selama ini pada umumnya menggunakan obat antibakteri dari bahan sintesis yang diketahui banyak menimbulkan efek samping dan dapat menimbulkan resistensi. Buni merupakan salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi antimikroba, karena menurut penelitian skrining fitokimia yang dilakukan oleh Elya *et al* (2012) daun buni mengandung terpenoid, tanin, glikosida, saponin dan antrakuinon.

Sejauh peneliti ketahui, belum ada laporan mengenai aktivitas antibakteri dari ekstrak daun buni, demikian juga dengan aktivitas fraksi-fraksinya. Berdasarkan hal tersebut maka perlu adanya penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun buni fraksi polar, semipolar dan nonpolar terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*, dan untuk mengetahui kandungan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri.

Identifikasi antibakteri dalam percobaan ini menggunakan metode difusi sumuran dengan beberapa tingkatan persentase konsentrasi ekstrak fraksi. Ekstrak etanol daun buni dipisahkan fraksinya dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV) hingga diperoleh fraksi

polar, semipolar dan nonpolar. Analisis bioautografi dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung yang mampu menghambat aktivitas bakteri.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Seperangkat alat yang digunakan antara wadah maserasi, *rotary evaporator* (Heidolph), penangas air, cawan porselen, *beaker glass* (Pyrex), batang pengaduk, erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), lemari pendingin, blender (Cosmos), timbangan (Ohaus), oven (Memmert), kompor listrik, pipa kapiler, bejana kromatografi, silika gel GF₂₅₄, corong buchner (Stuart), autoklaf (MA 672), batang ose steril, mikroskop (Olympus), cawan petri, tabung reaksi, mikropipet (Socorex), *deck glass*, *obyek glass*, *yellow tips*, *blue tips*, *spreader glass*, *shaker inkubator* (Excella 24), rak tabung, inkubator (Memmert), *Laminar Air Flow* (LAF), lampu UV254 nm dan UV366 nm (Vilber Lourmat).

Daun buni diperoleh dari Godean Yogyakarta, bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, akuades, silika serbuk G₆₀ (Merck), media *Mueler Hinton* (MH) (Oxoid), *Brain Heart Infusion* (BHI), KIA *Kligler Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), dan *Motility Indole Ornithine* (MIO), media BHI (*Brain Heart Infusion*) (Oxoid), *Simmons Citrate* agar, cat gram A, cat gram B, cat gram C dan cat gram D, streptomisin, aqua pro injeksi, DMSO, disk antibiotik ampislin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat, FeCl₃, Liebermann-Burchard, dan lempeng KLT silika GF₂₅₄.

Fraksinasi Daun Buni Dengan KCV (Kromatografi Cair Vakum)

Pemilihan eluen dengan cara KLT terhadap fraksi yang berbeda ekstrak etanol daun buni dengan fase gerak yang berbeda. Sampel diratakan diatas kolom silika, diletakkan kertas saring diatasnya dan dielus dengan beberapa parameter eluen. Satu kali elusi digunakan 200 mL pelarut, hasilnya ditampung dalam botol. KCV dilakukan 3x untuk mendapatkan rendemen yang mencukupi. Hasil diuji KLT untuk mengelompokkan menjadi fraksi polar, semipolar dan nonpolar menurut pola Rf yang sama. Hasil fraksinasi yang telah dikelompokkan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan dipanaskan diatas *water bath* sampai terbentuk ekstrak kental.

Pembuatan Media

Jumlah media yang ditimbang disesuaikan dengan volume pelarut yang dibutuhkan. Media dilarutkan dan dipanaskan kemudian diautoklaf untuk sterilisasi media.

Uji Mikrobiologi

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* diuji menggunakan metode pengecatan Gram dan metode biokimiawi menggunakan media KIA, LIA, MIO.

Pembuatan Seri Konsentrasi Fraksi Polar, Semipolar dan Nonpolar

Sebanyak 50 mg; 100 mg; 150 mg; 250 mg, dan 350 mg fraksi polar, semipolar, dan nonpolar ekstrak etanol daun buni ditimbang, masing-masing dilarutkan dalam 1 ml DMSO, sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 5% b/v; 10% b/v; 15% b/v; 25% b/v dan 35% b/v.

Uji Aktivitas Antibakteri

Media *Mueller Hinton* (MH) digunakan sebagai media uji, disemprotkan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang dibuat setara dengan standar Mc. Farland $1,5 \times 10^8$ CFU/mL di atasnya dan diratakan. Sejumlah 7 sumuran dibuat, diantaranya diisi ekstrak dari masing-masing fraksi etanol daun buni dengan seri konsentrasi 1 mg; 2 mg; 3 mg; 5 mg dan 7 mg per sumuran. Kontrol positif digunakan antibiotik streptomisin 0,1 dan sebagai kontrol negatif digunakan DMSO 100%. Diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C, diamati zona hambat yang timbul.

Uji Kromatografi Lapis Tipis

N-heksan:kloroform (7:3) v/v digunakan sebagai fase gerak. Bejana dijenuhkan dengan fase gerak kemudian ekstrak etanol daun buni fraksi polar, semipolar dan nonpolar ditotolkan pada pelat silika gel GF₂₅₄ yang telah diaktifkan. Pelat KLT dielusi sampai batas elusi, kemudian diambil dan dikeringkan. Diamati hasilnya pada sinar tampak, UV 254 nm dan UV 366 nm. Pelat KLT disemprot dengan reagen FeCl₃, anisaldehyd-H₂SO₄ dan Liebermann Burchard (LB).

Uji Bioautografi

Lempeng yang telah dielusi diletakkan pada permukaan media MH dalam cawan petri yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang dibuat setara dengan standar Mc. Farland $1,5 \times 10^8$ CFU/mL selama 20 menit. Lempeng diambil, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C, dan diamati ada tidaknya zona hambat.

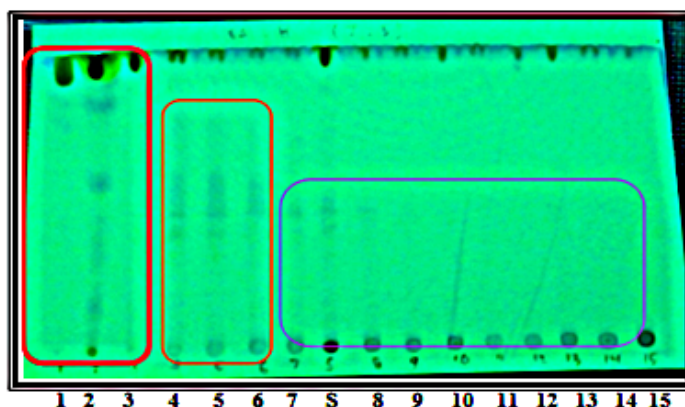
HASIL dan PEMBAHASAN

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan menggunakan KCV dengan fase diam silika G₆₀ fase gerak menggunakan gradien kepolaran bertingkat yang terdiri dari perbandingan kloroform dan n-heksan. Optimasi fase gerak dilakukan agar diperoleh hasil fraksinasi yang baik. Hasil elusi dikumpulkan dalam beberapa botol, kemudian dianalisis profil KLT dengan menggunakan fase gerak perbandingan n-heksan : etil asetat (7:3).

Tabel 1. Hasil Orientasi Pemilihan Eluen untuk KCV

Pelarut	Perbandingan Pelarut	Banyaknya Elusi	Fraksi
Kloroform:Heksan	6:4	2 kali	1, 2
Kloroform:Heksan	7:3	4 kali	3, 4, 5, 6
Kloroform:Heksan	8:2	3 kali	7, 8, 9
Kloroform:Heksan	9:1	3 kali	10, 11, 12
Kloroform:Etil asetat	8:2	2 kali	13, 14
Metanol	1	2 kali	15



Gambar 1. Hasil profil KLT KCV dengan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3) pada UV 254

Keterangan: (1), (2), dan (3) dicampur sebagai fraksi nonpolar

(4), (5), dan (6) dicampur sebagai fraksi semipolar

(7), (8), (9), (10), (11), (12), (13), (14), (15), dan (16) dicampur sebagai fraksi polar

Harga R_f diamati yang sama kemudian dibagi dalam 3 bagian menurut tingkat kepolarannya, yaitu polar, semipolar dan nonpolar. Larutan fraksi yang telah dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator*, kemudian diuapkan diatas *water bath* sampai terbentuk ekstrak kental. Hasil ekstrak etanol daun buni yang berat awalnya 60 gram kemudian difraksinasi diperoleh hasil akhir sebagai berikut

Tabel 2. Hasil Fraksinasi Ekstrak

Volume Pelarut	Berat Ekstrak Yang difraksinasi 3x(gr)	Rendemen hasil fraksinasi		
		Fraksi Nonpolar (gr)	Fraksi Semipolar (gr)	Fraksi Polar (gr)
200 mL	60	2,16 (5,40%)	2,02 (5,05%)	5,37 (13,42%)

Identifikasi Bakteri

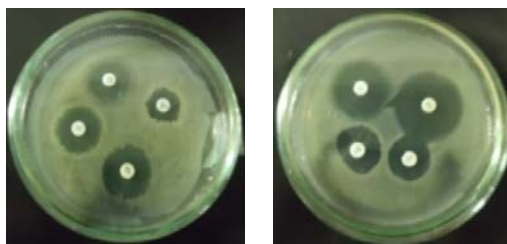
Untuk mengidentifikasi golongan jenis atau spesies bakteri Gram positif dan Gram negatif dilakukan dengan pengecatan gram. Hasil pengecatan Gram setelah dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x menunjukkan bahwa *Escherichia coli* berwarna merah, berbentuk batang pendek dan *Pseudomonas aeruginosa* berwarna merah, bentuk batang, dan tersebar. *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif, sehingga pada pencucian dengan alkohol akan menyebabkan pori-pori dinding sel bakteri membesar dan melepaskan kristal violet kemudian menyebabkan zat warna kontras fukhsin dan mengakibatkan bakteri berwarna merah.

Pengamatan biokimiawi dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat bakteri. Uji biokimia yang dilakukan terhadap *Escherichia coli* dilakukan dengan menggunakan media KIA, LIA dan MIO. Hasil dari pengujian *Escherichia coli* sesuai teori, yaitu pada media KIA yaitu pada bagian miring dan bagian dasar berwarna kuning dan negatif H₂S. Pada media LIA dihasilkan bagian miring dan bagian dasar tetap berwarna ungu. Sedangkan pada pengujian MIO tetap berwarna ungu dan terjadi pergerakan. Hasil pengujian pada *Pseudomonas aeruginosa* diidentifikasi menggunakan media agar sitrat. Hasil identifikasi menunjukkan adanya perubahan warna media di sekitar koloni dari warna hijau menjadi biru. Perubahan warna ini menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan amonium dihidrogen fosfat dan sodium sebagai sumber tunggal nitrogen dan menghasilkan karbon sehingga menimbulkan perubahan warna dari hijau (netral) menjadi biru (basa). **Uji Sensitivitas Bakteri Terhadap Antibakteri**

Perlakuan uji sensitivitas dimaksudkan untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap beberapa antibiotik. Pengujian dilakukan dengan menggunakan disk antibiotik tetrasiklin, ampisilin, vankomisin, kloramfenikol. Disk antibiotik tersebut diletakkan pada media yang telah ditanami dengan suspensi bakteri sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL sebesar 200 μ L, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam dan dilihat hasilnya. Berdasarkan perhitungan zona hambat yang didapatkan di sekitar disk antibiotik didapatkan hasil bahwa *Escherichia coli* bersifat sensitif terhadap ampisilin, eritromisin, vankomisin dan intermediet terhadap tetrasiklin, sedangkan pada *Pseudomonas aeruginosa* bersifat sensitif terhadap antibiotik tetrasiklin, kloramfenikol, vankomisin dan ampisilin.

Tabel 3. Hasil uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik

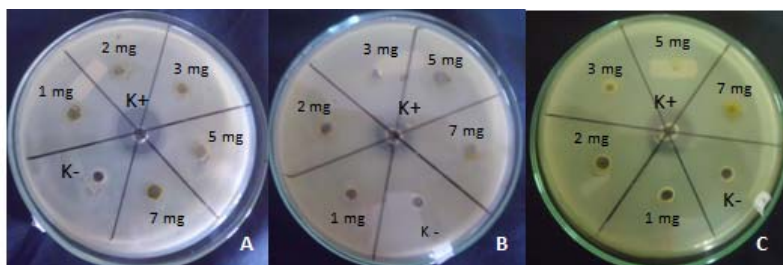
Disk Antibiotik	<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	Zona hambat (mm)	Keterangan	Zona hambat (mm)	Keterangan
Ampisilin (10 μ g)	15	sensitif	23	sensitif
Eritromisin (15 μ g)	19	sensitif	18	sensitif
Vankomisin (30 μ g)	12	sensitif	16	sensitif
Tetrasiklin (30 μ g)	17	intermediet	26	sensitif



Gambar 2. Hasil uji sensitivitas pada bakteri (A) *Escherichia coli* (B) *Pseudomonas aeruginosa*

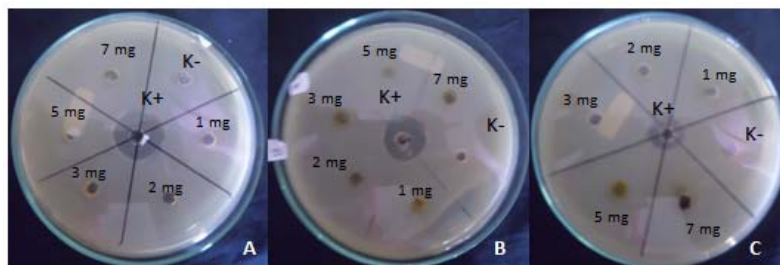
Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak etanol daun buni fraksi polar, semipolar dan nonpolar diujikan aktivitasnya pada bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan cara difusi sumuran. Diamati hasilnya setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Kontrol positif digunakan streptomisin 0,1mg karena streptomisin efektif terhadap bakteri gram negatif (Pratiwi, 2008), untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun buni fraksi polar, nonpolar dan semipolar memiliki aktivitas antibakteri atau tidak. Kontrol negatif digunakan DMSO 100% yang digunakan untuk mengetahui adanya pertumbuhan bakteri tanpa adanya hambatan yang berasal dari pelarut.



Gambar 3. Hasil uji aktivitas antibakteri bakteri *Escherichia coli* (A) fraksi polar (B) fraksi semipolar (C) fraksi nonpolar

Keterangan : (K -) kontrol negatif DMSO 100%
(K+) kontrol positif streptomisin 0,1 mg per sumuran



Gambar 4. Hasil uji aktivitas antibakteri bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (A) fraksi polar (B) fraksi semipolar (C) fraksi nonpolar

Keterangan : (K -) kontrol negatif DMSO 100%
(K+) kontrol positif streptomisin 0,1 mg per sumuran

Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun buni fraksi polar, semipolar dan nonpolar tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram

negatif *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil tersebut ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat di sekitar sumuran ekstrak baik fraksi polar, nonpolar maupun semipolar. Hal ini mungkin dikarenakan oleh berbagai faktor, antara lain karena senyawa fenolik, alkaloid, steroid dan saponin yang tidak sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kemungkinan yang lain karena pada ekstrak daun buni fraksi polar, nonpolar maupun semipolar tidak mampu berdifusi ke media.

Analisis Kualitatif Fraksi Polar, Semipolar, dan Non Polar Ekstrak Etanol Daun Buni

Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun buni dari fraksi polar, semipolar dan nonpolar.

Tabel 4. Hasil analisis KLT fraksi nonpolar ekstrak daun buni dengan fase gerak heksan : etil asetat (7:3) v/v dan fase gerak silika gel GF₂₅₄ dengan jarak pengembang 6 cm

Bercak	Rf	Deteksi				Perkiraan Senyawa	
		UV 254	UV 366 (fluoresensi)	FeCl ₃ (Vis)	Anisal-dehid H ₂ SO ₄	LB	
1	0,38	-	Ungu	-	-	-	-
2	0,42	-	Kuning	-	Kuning	Kuning	-
3	0,45	-	Biru	-	Biru		Terpenoid
4	0,48	-	Biru	-	-		-
5	0,5	-	Merah	Hitam	-	-	Fenolik
6	0,67	Pemadaman	Ungu	Hitam	-	-	Fenolik
7	0,73	Pemadaman	Orange	Hitam	-	-	Fenolik
8	0,82	Pemadaman	-	-	-	-	-
9	0,93	Pemadaman	-	-	-	-	-

Tabel 5. Hasil analisis KLT fraksi semipolar ekstrak daun buni dengan fase gerak heksan : etil asetat (7:3) v/v dan fase gerak silika gel GF₂₅₄ dengan jarak pengembang 6 cm

Bercak	Rf	Deteksi				Perkiraan Senyawa	
		UV 254	UV 366 (fluoresensi)	FeCl ₃ (Vis)	Anisal-dehid H ₂ SO ₄	LB	
1	0,42	-	Biru	-	Biru	-	Terpenoid
2	0,45	-	Merah	-	-	-	-
3	0,48	-	Merah	-	-	-	-
4	0,5	-	Orange	-	-	-	-
5	0,63	Pemadaman	Merah	Hitam	-	-	Fenolik
6	0,72	Pemadaman	Merah	-	-	-	-
7	0,8	Pemadaman	-	Hitam	-	-	Fenolik

Tabel 6. Hasil analisis KLT fraksi polar ekstrak daun buni dengan fase gerak heksan : etil asetat (7:3) v/v dan fase gerak silika gel GF₂₅₄ dengan jarak pengembang 6 cm

Bercak	Rf	Deteksi				Perkiraan Senyawa	
		UV 254	UV 366 (fluoresensi)	FeCl ₃ (Vis)	Anisal-dehid H ₂ SO ₄	LB	
1	0,17	Pemadaman	Merah	-	-	-	-
2	0,25	Pemadaman	Kuning	-	-	Kuning	-
3	0,33	Pemadaman	Biru	Hitam	Biru	-	Fenolik dan Terpenoid
4	0,42	Pemadaman	Merah	-	-	-	-
5	0,45	-	Coklat	-	-	-	-
6	0,48	Pemadaman	Merah muda	Hitam	-	-	Fenolik
7	0,5	Pemadaman	Orange	Hitam	-	-	Fenolik
8	0,67	Pemadaman	Merah	Hitam	-	-	Fenolik
9	0,73	Pemadaman	Coklat	Hitam	-	-	-

Berdasarkan analisis KLT dengan pengamatan pada UV UV 254 nm UV 366 nm dan penyemprotan dengan reagen FeCl_3 , anisaldehyd- H_2SO_4 dan LB dihasilkan bahwa pada ekstrak etanol daun buni fraksi polar, semipolar dan nonpolar terdapat kandungan senyawa fenolik dan terpenoid.

Uji Bioautografi

Uji bioautografi dilakukan untuk mendeteksi adanya senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri. Hasil bioautografi ekstrak daun buni fraksi polar, semipolar dan nonpolar yang diuji dengan bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil negatif, atau tidak ada senyawa yang beraktivitas sebagai antibakteri, ditunjukkan dengan tidak timbulnya hambatan, meskipun dalam uji penyemprotan KLT menunjukkan adanya senyawa antibakteri.



Gambar 8. Hasil bioautografi fraksi polar (A), fraksi semipolar (B), dan fraksi nonpolar (C) terhadap bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 9. Hasil bioautografi fraksi polar (A), fraksi semipolar (B), dan fraksi nonpolar (C) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ekstrak etanol 96% daun buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) fraksi polar, semipolar, dan nonpolar sampai konsentrasi 350 mg/mL tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Pada uji KLT ekstrak etanol 96% daun buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) fraksi polar, semipolar, dan nonpolar menunjukkan adanya senyawa fenolik, alkaloid, steroid, dan saponin, namun tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) fraksi polar, semipolar, dan nonpolar dengan konsentrasi ekstrak diatas konsentrasi 10 mg per sumuran menggunakan metode uji antibakteri secara dilusi.
2. Perlu dilakukan analisis KLT dengan menggunakan fase gerak lain, misalnya dengan kloroform:metanol (8:2) atau butanol jenuh air sehingga didapatkan profil KLT yang lebih objektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Elya, B., *et al.*, 2012, Screening of α -Glucosidase Inhibitory Activity from Some Plants of Apocynaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 2.
- Entjang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi*, 192, Penerbit PT. Citra Aditya Bakti, Bandung.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran* edisi 16, 54, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Micor, J. R. L, Deocariz, C and Mojica, E, 2005, Biological Activity of Bignay (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) Crude Extract in *Artemia salina*, *Journal Medical Scientist*, 5 (3), 195-198.
- Narod, F. B., Fakim, A. G., and Subratty, A. H., 2004, Biological investigations into *Antidesma madagascariense* Lam. (Euphorbiaceae), *Faujasiopsis flexuosa* (Lam.) C. Jeffrey (Asteraceae), *Toddalia asiatica* (L.) Lam and *Vepris lanceolata* (Lam.) G. Don (Rutaceae), *Journal of Cell and Molecular Biology* 3, 15-20.
- Pratiwi, T. S., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, 165-167, Jakarta, Penerbit Erlangga.
- Puspitasari, E., dan Ulfa, E. U., 2009, Uji sitotoksitas Ekstrak Metanol Buah Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) againts HeLa Cells, *Jurnal ILMU DASAR*, 10 (2), 181-185, *cit* Arland, 2006, *Buni*, Iptek Obat.

- Puspitasari, E., dan Ulfa, E. U., 2009, Uji sitotoksisitas Ekstrak Metanol Buah Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) againts HeLa Cells, *Jurnal ILMU DASAR*, 10 (2), 181-185, cit Chen, Y. C, 2004, Coumarolignans from the Root of Formosan *Antidesma pentandrom* vaar. Barbatum, *Helvetica Chimica Acta*, 87 (11).
- Rizvi, S. H, Shoeb A, Kapil, R. S dan Popli S. P, 2005, Antidesmanol-a new pentacyclic triterpenoid from *Antidesma menasu* Miq, ex, Tul, *Journal of Cellular and Molekuler Life Science*, 36 (2), 146-147.
- Panichayupakaranant, P., and Sakunpak, A., 2012, Antibacterial activity of Thai edible plants againts gastrointestinal patrogenis bacteria and isolation of a new broad spectrum antibacterial polyisoprenylated benzophenone, chamuangone, *Food chemistry*, 130 (2012), 826-831.
- Samappito, S., and Butkhup, L, 2008, An Analysis on Organic Acids Contents in Ripe Fruits of Fifteen Mao Luang (*Antidesma bunius*) Cultivars, Harvested Froom Dipterocarp Forest of Phupan Northeast Thailand, *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11 (7), 85-99.
- Shears, P. & Tony, H., 1997, *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran* 130-131, Jakarta, Hipokrates.
- Sutarni, Suryowinoto. M, 1997, *Flora Eksotika Tanaman Peneduh*, 36-38, Yogyakarta, Penerbit Kanisius.
- Wijayakusuma MH, Dalimarta S dan Wirian AS, 1996, *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*, 5, 56, Jakarta, Pustaka Kartini.