

**POTENSI ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI EKSTRAK ETANOL
DAUN BINTARO (*Carbera odollam* Gaertn.) TERHADAP *Salmonella typhi*
DAN *Staphylococcus aureus***

NASKAH PUBLIKASI



**Oleh:
MIRA AJENG WULANDARI
K 100090159**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

Berjudul:

**POTENSI ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI EKSTRAK
ETANOL DAUN BINTARO (*Carbera odollam* Gaertn.)
TERHADAP *Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus***

Oleh:

MIRA AJENG WULANDARI

K 100090159




Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada tanggal : 17 Oktober 2014

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,


Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

Penguji:

1. Ratna Yuliani, M.Biotech.St
2. Rima Munawaroh, M.Sc., Apt
3. Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

1. 
2. 
3. 

**POTENSI ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI EKSTRAK ETANOL DAUN
BINTARO (*Cerbera odollam* Gaertn.) TERHADAP *Salmonella typhi* DAN
*Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL AND BIOAUTOGRAPHY ETHANOL EXTRACT OF LEAVES
BINTARO (*Cerbera odollam* Gaertn.) AGAINST *Staphylococcus aureus*
AND *Salmonella typhi***

**Mira Ajeng Wulandari, Ika Trisharyanti D.K, Rosita Melannisa
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Ahmad Yani, Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura 57162**

ABSTRAK

Daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn) adalah salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri. Tanaman ini juga memiliki aktivitas sebagai analgesik, antikonvulsan, kardiotonik, diuretik, aktivitas hipotensi, antikanker, antioksidan, antifungi, dan antilarva. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun bintaro terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* serta senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri. Ekstraksi daun Bintaro menggunakan etanol 70% dengan metode maserasi sehingga diperoleh ekstrak kental. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dilusi padat untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Identifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak menggunakan fase diam Silica gel GF_{254nm} dan fase gerak toluen:etil asetat (85:15) v/v. Penelitian ini dilanjutkan dengan metode bioautografi kontak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bintaro dapat menghambat pada konsentersasi 4% tetapi tidak dapat membunuh pada konsentrasi tersebut. Hasil Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bintaro mengandung fenolik, saponin, flavonoid dan kardenolida. Hasil bioautografi menunjukkan adanya Rf 0,05 dan 0,133 pada bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Kelas-kelas senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu fenolik dan kardenolida.

Kata kunci: *Cerbera odollam* Gaertn., antibakteri, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, Bioautografi

ABSTRACT

Bintaro leaves (Cerbera odollam Gaertn) is one of the plants which have antibacterial activity. The plants is also has activity as an analgesic, anticonvulsant, cardiotonic, diuretic, hypotensive activity, anticancer, antioxidant, antifungal, and antilarva. This study aims to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) of ethanolic extract the bintaro leaf against the bacteria Salmonella typhi and Staphylococcus aureus as well as chemical compounds that have antibacterial activity. Extraction of Bintaro's leaf using 70% ethanol by maceration method so that obtained a viscous extract. Antibacterial activity test is done with a solid dilution method for determining levels the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentrations (MBC). Identification of chemical compounds contained in extracts using stationary phase Silica gel G F_{254nm} and mobile phase toluen: ethyl acetate (85:15) v/v. This study was continued by contact bioautography method. The results showed that the ethanol

extract of bintaro leaves can inhibit at 4% concentration, but can't kill at these concentration. Thin Layer Chromatography results indicate that the ethanol extract of bintaro leaves containing phenolic, saponin flavonoid and cardenolida. Bioautography results indicate the existence of Rf 0.05 and 0.133 in the bacteria Salmonella typhi and Staphylococcus aureus. The classes of compounds that have antibacterial activity is phenolic and cardenolida.

Keywords: Cerbera odollam Gaertn., Antibacterial, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus, Bioautography

PENDAHULUAN

Salmonella typhi dan *Staphylococcus aureus* merupakan dua contoh bakteri Gram-positif dan Gram-negatif yang dapat menyebabkan infeksi. Terapi infeksi dengan antibiotik sintesis dapat membawa masalah tersendiri, yaitu resistensi bakteri terhadap antibiotik dan gejala efek samping. Obat tradisional dapat menjadi alternatif lain dalam pengobatan infeksi. Senyawa alami yang berpotensi sebagai antibakteri umumnya mengandung steroid, tanin, polifenol, flavonoid (Rahman *et al.*, 2011), alkaloid, saponin (Ahmad *et al.*, 2008).

Beberapa penelitian terkait dengan penggunaan Bintaro sebagai antibakteri menjelaskan, bahwa tanaman mangrove yang termasuk dalam famili *apocynaceae* ini tumbuh secara luas di pesisir selatan Asia Timur dan Samudera Hindia (Cheenpracha *et al.*, 2004). Bagian bijinya beracun, mengandung cerberin sebagai cardenolide aktif utama (Gaillard *et al.*, 2004; Kuddus *et al.*, 2011). Ekstrak bintaro dapat dimanfaatkan sebagai analgesik, antikonvulsan, kardiotonik dan aktivitas hipotensi (Chang *et al.*, 2000). Daun, buah dan kulit batang bintaro mengandung saponin, kulit batangnya mengandung tanin, di samping itu daun dan buahnya juga mengandung polifenol (Salleh, 1997; Tarmadi *et al.*, 2007). Akar bintaro mengandung saponin, tanin, steroid, flavonoid, dan gums (Rahman *et al.*, 2011). Ekstrak metanol biji bintaro mengandung alkaloid, tanin, dan saponin (Ahmad *et al.*, 2008).

Penelitian Rahman *et al.* (2011) terhadap ekstrak metanol akar bintaro mempunyai aktivitas antibakteri pada beberapa bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Zona hambat yang dihasilkan adalah 14,65 mm untuk bakteri *Salmonella typhi* (Gram-negatif) sedangkan zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) adalah 10,80 mm, dengan konsentersasi ekstrak 200 mg/disc. Penelitian Ahmad *et al.*, (2008) menunjukkan ekstrak metanol biji bintaro mampu menghambat beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, dan *Shigella dysentriae*. Zona hambatan terhadap bakteri *Salmonella typhi* sebesar 15 mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 6 mm, dengan konsentrasi ekstrak 50 µg/mL.

Penelitian terhadap Bintaro kali ini secara khusus dibatasi pada dua persoalan. Batasan yang pertama adalah untuk menjelaskan mengenai Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun bintaro terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi padat. Kedua, untuk menjelaskan mengenai golongan senyawa dalam ekstrak etanol daun bintaro yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat:

Alat-alat yang digunakan meliputi alat; gelas (pyrex), *rotary evaporator* (Heidolph), penangas air (Memmert), neraca analitik (Adventurer Ohaus), sonifikator (Branson), mikropipet (Socorex), autoklaf (My Life), inkubator (Memmert) dan *incubator shaker* (Excella 24 New Brunswick Scientific), oven (Memmert), lampu UV dan lemari asam.

2. Bahan:

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi: daun bintaro yang diperoleh dari daerah Solo Baru (Sukoharjo, Jawa Tengah), etanol 70%, akuades, media *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid[®]), media *Mueller Hinton* (MH) (Oxoid[®]), media *Kligler Iron Agar* (KIA) (Oxoid[®]), media *Lysine Iron Agar* (LIA) (Oxoid[®]), media *Motility Indole Ornithine* (MIO) (Oxoid[®]), media *manitol salt agar* (MSA) (Oxoid[®]), bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, standar Mc. Farland $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, CMC Na 0,25%, cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D, etil asetat pro analisis, toluen pro analisis, silika gel GF₂₅₄, FeCl₃, Liebermann-Burchard, SbCl₃, Dragendorff, dan Sitroborat.

B. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri morfologi secara makroskopi daun bintaro terhadap kepustakaan. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Buku acuan yang digunakan adalah *Flora* karangan Van Steenis (2005).

2. Ekstraksi Daun Bintaro

Daun bintaro sebanyak 500 gram yang sudah dikeringkan dan dipotong-potong, kemudian dimaserasi dengan menggunakan etanol 70% dengan volume 3750 mL. Maserasi

dilakukan selama 3 hari, selanjutnya disaring dan dimasukkan ke dalam wadah panci *stainless steel*. Ampas yang tersisa kemudian dimaserasi hingga 3 kali remasrasi. Hasil maserat yang terkumpul diuapkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental etanol daun bintaro yang kemudian diuapkan di atas kompor listrik.

3. Identifikasi Bakteri

- a. Pewarnaan Gram
- b. Uji Biokimia menggunakan MSA, KIA, LIA, dan MIO.

4. Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose bakteri dari stok bakteri disuspensikan dalam media BHI 5 mL, inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 1-2 jam dengan *incubator shaker*. Larutan hasil inkubasi diambil 200 µL, diencerkan menggunakan normal saline dan disamakan kekeruhannya dengan standar Mc. Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

5. Pembuatan larutan stok dan seri konsentrasi ekstrak etanol daun bintaro

Ekstrak daun bintaro ditimbang 1 gram dalam flakon kemudian disuspensikan dengan 5 mL CMC-Na 0,25% selama ±15 menit. Larutan stok yang telah larut tersebut digunakan sekali uji untuk masing-masing bakteri.

Suspensi ekstrak dengan stok 20% diambil dengan beberapa seri: 4%, 2%, 1%, 0,5%, dan 0,25% kemudian ditambahkan *suspending agent* hingga 1 mL. Setelah itu, suspensi ekstrak ditambahkan media MH yang telah disterilkan sampai volume total masing-masing tabung sebanyak 5 mL, kemudian dikocok hingga benar-benar homogen dan dipadatkan dalam posisi miring hingga memadat.

6. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi Padat

Berdasarkan seri konsentrasi ekstrak yang dibuat, dan media MH yang telah dicampurkan ekstrak telah padat, sebanyak 15 µL suspensi bakteri yang telah dibuat setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL ditetaskan ke dalam media, kemudian diratakan dengan ose steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian diamati pertumbuhan bakterinya. Larutan uji pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM selanjutnya dikultur ulang pada media padat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Media padat yang tetap terlihat jernih ditetapkan sebagai KBM.

7. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Silika gel GF₂₅₄ diaktifkan dengan cara dipanaskan pada suhu ±120°C selama 1 jam. Larutan stok 4% diencerkan dengan alkohol 1 mL, ditotolkan pada plat KLT sebanyak 3 µL,

kemudian dielusi dengan fase gerak toluen:etil asetat (85:15) v/v. Deteksi kandungan senyawa kimia menggunakan UV 254_{nm}, UV 366_{nm} pereaksi semprot SbCl₃ (kardenolida) FeCl₃ (fenolik), Dragendroff (alkaloid), Lieberman Burchard (saponin), dan Sitroborat (flavonoid). Deteksi senyawa saponin dengan uji buih dilakukan dengan cara menambahkan air panas (1:1) pada sampel sambil dikocok selama ± 5 menit, jika menimbulkan busa stabil dengan tinggi minimal 1 cm selama minimal 15 menit menunjukkan positif senyawa saponin (Setiawan, 2012).

8. Uji Bioautografi

Senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri dalam ekstrak etanol daun bintaro dapat dideteksi dengan menggunakan metode bioautografi. Hasil KLT ekstrak etanol diletakkan di atas permukaan media MH yang telah diinokulasi bakteri selama 15 menit. Setelah itu plat *silica* diambil kemudian media MH diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Bila terdapat zona jernih menunjukkan bercak-bercak tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Plat yang dielusi tanpa ekstrak etanol daun bintaro digunakan sebagai kontrol.

HASIL dan PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk menetapkan kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian. Hal ini dilakukan untuk menghindari kesalahan terhadap tanaman yang digunakan. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hasil determinasi berdasarkan literatur yang digunakan menunjukkan bahwa tanaman yang diidentifikasi adalah benar tanaman dengan spesies *Cerbera odollam* Gaertn, genus *Cerbera*, dan famili Apocynacea.

B. Ekstraksi

Ekstraksi daun bintaro dilakukan dengan menggunakan penyari etanol 70%. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi merupakan metode penyarian yang cocok untuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (Sarker *et al.*, 2005). Selain itu metode ini dipilih karena mudah dalam pengerjaan dan alat yang digunakan sederhana. Pelarut etanol digunakan karena merupakan pelarut yang tidak beracun, bersifat netral, tidak mudah ditumbuhi jamur, serta merupakan pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar maupun nonpolar.

Maserasi dilakukan dengan menimbang 500 g serbuk simplisia direndam dalam etanol 70% sebanyak 3,75 liter, proses perendaman maserat selama 3 hari. Selama maserasi perlu pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan

vacuum rotary evaporator untuk menguapkan etanol. Kandungan etanol yang masih ada dihilangkan dengan menguapkan ekstrak di atas *waterbath* dengan menjaga suhunya <60°C agar kandungan zat aktif tanaman tetap stabil. Rendemen ekstrak etanol 70% yang diperoleh sebesar 14,5%, yaitu dari 500 g serbuk daun bintaro menjadi 72,4 g ekstrak.

C. Identifikasi Bakteri

1. Pewarnaan Gram

Hasil pengecatan Gram menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk dalam golongan bakteri Gram positif dan *Salmonella typhi* termasuk dalam golongan bakteri Gram negative (Hart dan Shears, 1997). Bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, rantai, dan berwarna ungu, sedangkan bakteri *Salmonella typhi* berbentuk batang, berwarna merah dan menyebar.

2. Uji Biokimia

Hasil uji dengan media MSA (*Manitol Salt Agar*), *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasi manitol ditandai dengan adanya perubahan warna media dari merah menjadi kuning (bersifat asam). Identifikasi biokimia *Staphylococcus aureus* pada media MSA sesuai teori, yaitu bakteri memberikan perubahan warna media MSA menjadi kuning pada bagian atas dan bawah media (Anonim, 2010).

Uji biokimia terhadap *Salmonella typhi* menggunakan media KIA menunjukkan (Tabel 1) bakteri mampu memfermentasi glukosa dan laktosa, karena terjadi perubahan warna dari merah menjadi kuning kemerahan pada bagian miring, sedangkan pada bagian tegak dari warna merah menjadi kuning (bersifat asam). *Salmonella typhi* pada media KIA tidak membentuk gas CO₂ tetapi terdapat gas H₂S. Pembentukan gas CO₂ ditandai dengan adanya gelembung udara dalam media, sedangkan pembentukan gas H₂S ditandai dengan adanya penghitaman media.

Media LIA (*Lysine Iron Agar*) bagian miring menunjukkan warna ungu dan terbentuk gas H₂S. Warna ungu tersebut menunjukkan bahwa *Salmonella typhi* mampu mendekarboksilasi lisin (bersifat basa) dan pembentukan gas H₂S ditandai dengan adanya penghitaman media (Tabel 1).

Media MIO (*Motility Indole Ornithine*), menunjukkan pertumbuhan bakteri hanya di sepanjang tusukan ketika diinokulasi, adanya perubahan warna pada media dari ungu menjadi ungu (bersifat basa), dan tidak terbentuk cincin berwarna merah setelah ditetesi pereaksi Kovac. Hal ini menunjukkan bahwa *Salmonella typhi* termasuk bakteri yang non motil atau tidak dapat bergerak, tetapi dapat mendekarboksilasi ornitin, dan tidak memproduksi indol (Tabel 1).

Salmonella typhi sedikit mengurai glukosa, maltosa dan mannite, tidak mengurai sukrosa dan laktosa. Tidak menghasilkan urease, oksidase, maupun indol. Bakteri ini bersifat motil dan hanya menghasilkan sedikit sitrat (Dzen, 2003). KIA digunakan untuk melihat apakah bakteri gram negatif mengurai glukosa dan laktosa atau memfermentasi sukrosa dan membentuk hydrogen sulfid (H₂S). *Salmonella typhi* akan menunjukkan hasil alkalin-asam (K/A) yang berarti hanya memfermentasi glukosa. Bakteri ini juga menghasilkan bagian hitam di dasar yang menunjukkan adanya penghasilan H₂S (Dzen, 2003).

Tabel 1. Identifikasi biokimia terhadap *Salmonella typhi*

Bakteri	KIA			LIA			MIO		
	Miring	Tegak	H ₂ S	Miring	Tegak	H ₂ S	Warna	Pergerakan	Indol
<i>Salmonella typhi</i>	Alkali (merah kekuningan)	Asam (kuning)	Ada (warna hitam)	Alkali (ungu)	Alkali (ungu)	Ada (warna hitam)	Alkali (ungu)	-	-

Ket : (-) menunjukkan hasil negative

D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dengan Metode Dilusi Padat

Uji aktivitas antibakteri ini menggunakan 3 macam kontrol yaitu kontrol media, kontrol pertumbuhan, dan kontrol *suspending agent*. Kontrol media hanya berisi media MH yang digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya kontaminan, sedangkan kontrol pertumbuhan berisi media MH dan suspensi bakteri yang bertujuan untuk mengetahui bakteri uji dapat tumbuh dengan baik pada media. Kontrol terakhir adalah kontrol *suspending agent* digunakan untuk melihat apakah *suspending agent* yang digunakan mempunyai aktivitas terhadap bakteri. *Suspending agent* yang digunakan pada penelitian ini adalah CMC-Na 0,25% untuk membantu mensuspensikan ekstrak etanol pada media MH. Konsentrasi terkecil ekstrak etanol daun bintaro yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* adalah 4% (Tabel 2). Kadar Bunuh Minimum dilakukan dengan cara menggoreskan pada media MH steril dari tabung yang mampu menghambat bakteri tersebut (KHM) kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.

Tabel 2. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bintaro terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan metode dilusi padat

No	Konsentrasi % b/v	Hasil Pengamatan			
		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella typhi</i>	
		Dilusi padat	Subkultur Media MH	Dilusi padat	Subkultur media MH
1	4%	--	++	--	++
2	2%	++	X	++	X
3	1%	++	X	++	X
4	0,5%	++	X	++	X
5	0,25%	++	X	++	X
6	K1	++	X	++	X
7	K2	++	++	++	++
8	K3	--	--	--	--

Ket (--) : tidak ada pertumbuhan bakteri (++) : ada pertumbuhan bakteri (X) : tidak dilakukan

K1 : kontrol *suspending agent*

K2 : kontrol pertumbuhan

K3 : kontrol media

Hasil uji ekstrak etanol daun bintaro terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* diperoleh nilai KHM yang sama masing-masing sebesar 4% dan KBM belum didapat sampai konsentrasi 4% (Tabel 2). Ekstrak etanol daun bintaro tidak dapat membunuh kedua bakteri sampai konsentrasi 4% yang ditunjukkan dengan masih adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut. Penelitian ini menunjukkan pada konsentrasi 4% ekstrak etanol daun bintaro mampu memberikan hambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

Hasil penelitian Rahman *et al*, (2011) membuktikan ekstrak metanol bintaro mempunyai nilai KHM pada konsentrasi ekstrak 5 mg/mL menggunakan metode dilusi cair dan menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 200 mg/disk diperoleh zona hambat ekstrak sebesar 10,80 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* sebesar 14,65 mm. Perbedaan hasil yang ditunjukkan dari penelitian Rahman *et al* dengan penelitian yang dilakukan penulis (Tabel 2), dapat disebabkan oleh beberapa hal, seperti tempat asal tanaman yang digunakan, pemilihan metode ekstraksi, metode uji aktivitas antibakteri, dan perbedaan lainnya berupa pelarut yang digunakan..

E. Uji KLT Ekstrak Etanol Daun Bintaro

Hasil uji kualitatif dengan KLT dideteksi menggunakan reagen untuk kardenolida, fenolik, flavonoid, alkaloid, dan saponin untuk menentukan golongan senyawa-senyawa yang terkandung di dalam daun bintaro.

Harborne (1996) menjelaskan senyawa fenolik dapat dideteksi menggunakan pereaksi semprot FeCl_3 yang secara visual akan memberikan warna hijau, biru, merah atau hitam. Hasil pengamatan menunjukkan (Tabel 3) ekstrak etanol daun bintaro memberikan warna biru tua mengandung senyawa fenolik yang merupakan senyawa polar. Uji fitokimia pada saponin menunjukkan terbentuknya buih yang stabil sehingga ekstrak etanol daun bintaro mengandung senyawa saponin. Hasil deteksi semprot menggunakan Liebermann-Burchard terdapat bercak berwarna coklat. Senyawa saponin secara visual dengan reagen semprot Liebermann-Burchard (LB) akan memberikan warna hijau atau biru untuk saponin steroid dan warna merah muda, merah, ungu atau violet untuk saponin triterpenoid (Farnsworth, 1966). Hasil pengamatan dengan pereaksi semprot LB, ekstrak etanol daun bintaro tidak mengandung saponin karena warna yang ditunjukkan adalah coklat. LB yang digunakan sudah tidak baru sehingga data yang diperoleh tidak sesuai.

Senyawa kardenolide dideteksi dengan reagen SbCl_3 yang secara visual memberikan warna ungu dan abu-abu (Wagner dan Bladt, 1996). Pengamatan menunjukkan bercak ungu yang menandakan adanya senyawa kardenolide pada ekstrak etanol daun bintaro (Tabel 3). Wagner dan Bladt (1996) menyatakan bahwa senyawa alkaloid dideteksi menggunakan reagen semprot Dragendorff yang memberikan warna orange atau coklat. Hasil penelitian menunjukkan bercak berwarna kuning kecokelatan menandakan ekstrak etanol daun bintaro tidak mengandung senyawa alkaloid. Senyawa flavonoid dideteksi dengan reagen semprot sitoborat (Alam *et al.*, 2012).). Pengamatan dilakukan setelah dipanaskan selama 5-10 menit pada suhu 100°C pada UV 366 nm akan memberikan fluoresensi hijau kekuningan (Alam *et al.*, 2012). Hasil pengamatan pada UV 366 nm memberikan fluoresensi, sehingga menunjukkan ekstrak etanol daun bintaro mengandung senyawa flavonoid (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil KLT ekstrak etanol daun bintaro dengan fase gerak toluen:etil asetat (85:15) v/v dengan jarak pengembangan 6 cm

No.	hRf	Sitoborat UV 366	Deteksi Pereaksi Semprot				Perkiraan Senyawa
			*LB Sinar Tampak	FeCl_3 Sinar Tampak	Dragendorff Sinar Tampak	SbCl_3 Sinar Tampak	
1	0.05	-	cokelat	Biru tua	-	-	Fenolik
2	0.1	-	-	-	-	-	-
3	0.133	-	-	-	-	ungu	kardenolid
4	0.2	-	-	-	-	-	-
5	0.3	-	cokelat	Biru tua	-	-	Fenolik
6	0.425	-	-	-	-	-	-
7	0.483	Hijau kekuningan	-	-	-	-	flavonid
8	0.583	-	-	-	-	-	-
9	0.7	-	-	-	-	-	-

*LB yang digunakan tidak dibuat baru sehingga hasil tidak sesuai teori.

Berdasarkan hasil KLT tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bintaro mengandung senyawa fenolik, saponin, kardenolide, dan flavonoid.

F. Uji Bioautografi

Hasil penelitian menunjukkan adanya area jernih pada Rf 0,05 dan 0,133 pada bakteri *Salmonella typhi* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil uji bioautografi Rf yang diperoleh dibandingkan dengan hasil uji KLT pada Rf 0,05 dan 0,133 merupakan senyawa fenolik dan kardenolida. Hasil tersebut dapat diartikan bahwa ekstrak daun bintaro memiliki golongan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* yaitu fenolik dan kardenolida.

Mekanisme aksi senyawa fenol yaitu sebagai antibakteri dapat mengganggu membran dan dinding sel bakteri, dapat menonaktifkan enzim dan mengendapkan protein. Senyawa

fenol juga mampu membunuh bakteri (Katzung, 2004). Senyawa fenolik merupakan senyawa yang larut dalam pelarut polar karena adanya kandungan gugus hidroksil (Jambang, 2004).

Kardenolida termasuk dalam golongan glikosida jantung atau glikosida steroid / saponin steroid. Glikosida steroid merupakan glikosida dengan aglikon steroid. Glikosida jantung / cardiac glycoside / sterol glycoside adalah glikosida yang mempunyai daya kerja yang kuat dan spesifik terhadap otot jantung (Brotosisworo, S., 1979). Aglikon steroid atau genin terdiri dari dua tipe, yaitu tipe kardenolida dan bufadienolida. Umum dalam alam adalah tipe kardenolida yang merupakan steroida C₂₃ dengan rantai samping yang terdiri dari lingkaran lakton lima anggota yang tidak jenuh α - β dan menempel pada C nomor 17 bentuk β (Brotosisworo, S., 1979).

Saponin merupakan larutan koloidal dalam air dan membentuk busa jika dikocok akan tetap berbusa dan tidak hilang dengan penambahan asam (Harborne, 1996). Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau hidrolisis menggunakan enzim (Robinson, 1995). Saponin merupakan jenis glikosida. Saponin ini memiliki aglikon berupa steroid yang diperoleh dari metabolisme sekunder tumbuhan. Jembatan ini juga sering disebut dengan glikosida jantung, hal ini disebabkan karena memiliki efek kuat terhadap jantung. Saponin steroid biasanya bersifat netral dan disebut sebagai glikosida jantung karena mempengaruhi kerja otot jantung (Brotosisworo, S., 1979). Struktur dari glikosida jantung ini menyerupai struktur saponin steroida (Robinson, 1995).

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol daun bintaro dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Hasil KHM terhadap kedua bakteri tersebut sama yaitu masing-masing sebesar 4%, sedangkan KBM tidak diperoleh sampai dengan konsentrasi 4%.
2. Golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun bintaro yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan metode bioautografi adalah fenolik dan kardenolida.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bintaro terhadap bakteri lain.

DAFTAR ACUAN

- Ahmed, F., Amin, R., Shahid, IZ., & Sobhani, MME., 2008, Antibacterial, cytotoxic and neuropharmacological activities of *Cerbera odollam seeds*, *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 8 (4), 323-328.
- Alam, G., Mufidah, Massi, N., Kurnia, R.T.F., Rahim, A. & Usmar, 2012, Skrining Komponen Kimia dan Uji Aktivitas Mukolitik Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) Terhadap Mukosa Usus Sapi secara *In vitro*, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 16 (3), 123-126.
- Ansel, H. C., 2005, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi IV, Jakarta, Univesitas Indonesia.
- Astuti, P., Pratiwi, S. U. T., Hertiani, T., Alam, G., Tahir, A. & Wahyuono, S., 2002, Marine Sponge Jaspis sp, a Potential Bioactive Natural Source Against Infectious Diseases, *Berkala Ilmu kedokteran*, 34 (3), 4.
- Backer, C.A. & Van Den Brink, R.C.B., 1965, Flora of Java: Spermatophytes only, *Noordhoff-Groningen-The Netherlands*, 1, 320.
- Brooks, G. F., Butel, J. S. & Morse, S. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*, Edisi I, diterjemahkan oleh bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 327, 335, 395-397, 525, Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Brotosisworo, S., 1979, *Obat Hayati Golongan Glikosida*, Yogyakarta, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada
- Chang, L.C., Gills, J.J., Bhat, K.P.L., Luyengi,L., Farnsworth, N.R., Pezzuto, J.M., & Kinghorn, A.D., 2000, Activity-Guided Isolation of Constituents of *Cerbera manghas* with Antiproliferative and Antiestrogenic Activities, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 10, 2431-2434
- Cheenpracha, S., Karalai, C., Rat-a-pa, Y., Ponglimanont, C., & Chantrapromma, K., 2004, New Cytotoxic Cardenolide Glycoside from the *Seeds of Cerbera manghas*, *Chem. Pharm. Bull.* 52 (8) 1023-1025
- Djalil, A. D., Rahayu, W. S. & Wahyuningrum, R., 2010, Modifikasi Molekul Klorofilin sebagai Kandidat Antikanker dalam Terapi Fotodinamik, *Laporan Penelitian*, Fakultas MIPA, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Djide, M. N., 2003, *Mikrobiologi Farmasi*, 90, 96-97, Makassar, Jurusan Farmasi UNHAS.
- Dzen, Sjoekoer. M, dkk. 2003. *Bakteriologik Medik*. Malang: Bayumedia.
- Farnsworth, N. R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55 (3), 225-276
- Gaillard Y, Krishnomoorthy A & Bevalot F., 2004, *Cerbera odollam*: A 'Suicide Tree' and

Cause of Death in The State of Kerala, India. *J Ethnopharmacol*, 95, 123-126

- Gould, D. & Brooker, C, 2003, *Mikrobiologi Terapan untuk perawat*, halaman 252, cetakan pertama, Jakarta, penerbit buku kedokteran EGC.
- Harborne, J.B., 1996, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan Kedua, diterjemahkan oleh Padmawinata, K. & Soediro, I., 49, Bandung, Penerbit ITB
- Hart, T. & Shears, P., 1997, *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*, 73, 76, 80, 82, 93, 111, Jakarta, Penerbit Hipokrates.
- Hayati, E. K. & Halimah, N., 2010, Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against *Artemia salina* Leach of Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) Plant Extract, *Alchemy*, 1 (2), 80-81.
- Heinrich, Michael., Barnes, J., Gibbson, S., Williamsom, M.E., 2010, *Farmakognosi dan Fitoterapi*, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Jambang, N., 2004, Study Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan pada 10 Merk Teh Hitam yang Beredar di Pasaran Kota Malang, *Skripsi*, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Maulany, R. F. & Edinugroho, Jakarta, Salemba Medika.
- Katzung, B. G., 2004, *Farmakologi: Dasar dan Klinik*, Edisi Pertama, 170, Jakarta, Salemba Medika.
- Khanh, 2001, *Cerbera L, PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation*, Bogor., <http://www.proseanet.org>. (Diakses tanggal 03 Maret 2012)
- Kuddus, M. R., Rumi, F., & Masud, M.M., 2011, Phytochemical Screening and Antioxidant Activity Studies of *Cerbera odollam* Gaertn. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2 (1), 413-418
- Kusumaningtyas, E., Astuti, E. & Darmono., 2008, Sensitivitas Metode Bioautografi Kontak dan Agar Overlay dalam Penentuan Senyawa Antikapang, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6 (2), 75-76.
- Makgotlho, P. E., 2009, Molecular Characterisation of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains, *Disertation*, The Faculty of Health Sciences Department of Medical Microbiology, University of Pretoria, South Africa, 25-26.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S., 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 1, Jakarta, Universitas Indonesia.
- Poole, K., 2002, Mechanisms of Bacteria Biocide and Antibiotic Resistance *Journal of Applied Mikrobiologi*, 92: 558-648.

- Pratiwi, S., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Jakarta, Penerbit Erlangga.
- Radji, M. & Manurung, J., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi Kedokteran*, 99, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Rahman, M.D.A., Paul, P., & Rahman, A.A., 2011, Antinociceptive, Antibacterial & Diuretic Activities of *Cerbera odollam* Gaertn Roots, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2 (3), 16-23
- Robinson. T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, Bandung, Insitut Teknologi Bandung.
- Rohman, A. & Gandjar, I. G., 2007, *Metode Kromatografi untuk Analisis Makanan*, 11-12, Yogyakarta, Pustaka Pelajar.
- Sabir, A., 2005, Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigono* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro), *Majalah Kedokteran Gigi*, 38 (3), 135.
- Sarker, S. D., Latif, Z. & Gray, A. I., 2005, *Natural Products Isolation*, second edition, New Jersey, Humana Press.
- Salleh, 1997, *Ethno botany, Ethno Pharmacognasy and Documentation of Malaysia Medicinal and Aromatic Plants*, Malaysia, UKM.
- Saravanan, P., Ramya, V., Sridhar, H., Balamurugan, V., & Umamaheswari, S., 2010, Antibacterial Activity of *Allium sativum* L. on Pathogenic Bacterial Strains, *Global Veterinaria*, 4 (5), 519, 522.
- Sastrohamidjojo, H., 2002, *Kromatografi*, edisi II cetakan ketiga, Yogyakarta, Liberty.
- Sawer, I. K., Berry, M. I. & Ford, J. L., 2005, The Killing Effect on *Staphylococcus aureus*, *Lett. Appl. Microbial*, 40, 29.
- Setiawan, T. H., 2012, Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Akstrak Ampas Teh Hijau, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Satya Wacana Salatiga
- Syarifah, M.M.S., Nurhanah, M.Y., Haffiz, J.M., Ilham, A.M., Getha, K., Asiah, O., Norhayati, I., Sehira, H.L., & Suryani, S.A., 2011, Potential Anticancer Coumpound From *Cerbera Odollam*, *Journal of Tropical Fores Science*, 23 (1), 89-96.
- Tarmadi, D., Prianto, A.H. Guswenrivo, I.,Kartika, T., & Yusuf, S., 2007, Pengaruh Ekstrak Bintaro (*Carbera odollam* Gaertn) dan Kecubung (*Brugmansia candida* Pers) terhadap Rayap Tanah *Coptotermes* sp, *J. Tropical Wood Science and Technology*, 5 (1), 38-42.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H., 2011, Phytochemical Screening and Extraction: A Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 98-106.

Tjitrosoepomo, G., 2007, *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*, Yogyakarta, Universitas Gajah Mada Press.

Todar, K., 2005, Online Textbook of Bacteriology, *Science Magazine*, 429-450.

Wagner, H. & Blatt, S., 1996, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Edition, German, Springer, 6, 152, 197.