

**SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DARI
BEBERAPA DAUN TANAMAN DI INDONESIA TERHADAP BAKTERI
Shigella sonnei SERTA BIOAUTOGRAFINYA**



Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Fakultas Farmasi

Oleh:

SELVY SEKTI NOOR UTARI

K 100 120 088

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA

2016

HALAMAN PERSETUJUAN

**SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DARI
BEBERAPA DAUN TANAMAN DI INDONESIA TERHADAP BAKTERI
Shigella sonnei SERTA BIOAUTOGRAFINYA**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

SELVY SEKTI NOOR UTARI

K 100 120 088

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Rima Munawaroh, M.Sc., Apt.

NIK. 958

HALAMAN PENGESAHAN

**SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DARI
BEBERAPA DAUN TANAMAN DI INDONESIA TERHADAP BAKTERI
Shigella sonnei SERTA BIOAUTOGRAFINYA**

OLEH

SELVY SEKTI NOOR UTARI

K 100 120 088

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Selasa, 20 Desember 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

Dewan Penguji:

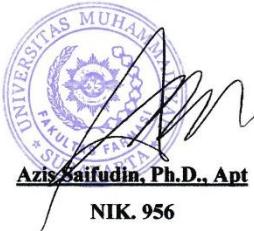
1. Ratna Yuliani, M.Biotech.St
(Ketua Dewan Penguji)
2. Dr. Muhtadi, M.Si
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Rima Munawaroh, M.Sc., Apt
(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)

(.....)

(.....)


Dekan,



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 20 Desember 2016

Penulis



SELVY SEKTI NOOR UTARI

K 100 120 088

SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DARI BEBERAPA DAUN TANAMAN DI INDONESIA TERHADAP BAKTERI *Shigella sonnei* SERTA BIOAUTOGRAFINYA

Abstrak

Frekuensi kejadian diare pada negara berkembang lebih banyak 2-3 kali lipat dibandingkan dengan negara maju. *Shigella sonnei* merupakan bakteri Gram negatif penyebab utama penyakit diare dan *Shigellosis*. Di Indonesia *Shigella* menyebabkan kira-kira 10% diare akut pada anak, sedangkan pada dewasa sekitar 12%. Beberapa tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah daun sembukan, daun asam jawa, daun gandola atau binahong, daun bakung, daun jambu biji, daun kenikir, daun pandan wangi, daun kelor, daun nilam dan daun beluntas. Antibiotik sintetis dapat menyebabkan efek samping. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri, dan golongan senyawa yang dapat bertanggungjawab terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% beberapa daun tanaman di Indonesia.

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Hasil ekstraksi diujikan terhadap bakteri *Shigella sonnei* menggunakan metode difusi Kirby Bauer dengan konsentrasi 20% sebanyak 15 μ L/disk. Deteksi kandungan senyawa menggunakan metode skrining fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5 v/v/v) fase atas yang kemudian dilanjutkan dengan bioautografi kontak.

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L) mempunyai rata-rata zona hambat terbesar yaitu $10,7 \pm 0,6$ mm dan daun gandola atau binahong (*Bacella alba* L) mempunyai rata-rata zona hambat terkecil yaitu $6,3 \pm 0,3$ mm. Hasil skrining fitokimia dan KLT menunjukkan adanya tanin, saponin, terpenoid dan flavonoid pada ekstrak etanol daun jambu biji. Hasil uji bioautografi menunjukkan golongan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antibakteri yaitu senyawa saponin, flavonoid dan tanin.

Kata Kunci : Antibakteri, Bioautografi, KLT, *Psidium guajava* L, *Shigella sonnei*.

Abstract

The frequency of occurrence of diarrhea in developing countries more 2-3 times compared with developed countries. Shigella sonnei is a typical of Gram-negative bacterium as the major cause of diarrhea and shigellosis. Shigella has caused approximately 10% of acute diarrhea in children, and 12% in adult. Several leaves of plants used for this research are sembukan, tamarind, gandola or binahong, spider lily leaves, guava, marigolds, fragrant pandan, moringa, patchouli and beluntas. The purpose of this research was to determine the antibacterial activity, the highest antibacterial activity and the classes of compounds that play role on the antibacterial activity of 70% ethanol extract of few leaves plantation in Indonesia.

The extraction of the few leaves was done by using maceration method. The results of extraction were tested on Shigella sonnei bacteria by using Kirby Bauer diffusion method with 20% concentration at 15 mL/disk. The detection of compounds was done by using phytochemical screening and Thin Layer Chromatography (TLC) with a stationary phase of silica gel GF₂₅₄ and mobile phase B: A: W (4: 1: 5 v/v/v) upper phase followed by a bioautografi test by using bioautografi contact.

*Guava leaf (*Psidium guajava* L) having an average inhibitory zone of 10.7 ± 0.6 mm and gandola or binahong leaf (*Basella alba* L) having an average inhibitory zone of $6,3 \pm 0,3$ mm.*

The results of phytochemical screening and TLC indicated any tannins, saponins, terpenoids and flavonoids in etanol extract of guava. The result of bioautografi test indicated that compounds which play role as antibacterial activity are saponins, flavonoids and tannins.

Keywords: Antibacterial, Bioautografi, TLC, Psidium guajava L, Shigella sonnei.

1.PENDAHULUAN

Shigella sonnei merupakan suatu bakteri Gram negatif yaitu penyebab utama penyakit diare dan *Shigellosis* (Ranjbar, 2008). WHO menyebutkan bahwa sekitar 15% dari seluruh kejadian diare pada anak di bawah usia 5 tahun adalah disentri. Di Indonesia *Shigella* menyebabkan kira-kira 10% diare akut pada anak, sedangkan pada dewasa sekitar 2%. Penyebaran *Shigellosis* sering terjadi secara kontak orang ke orang karena dosis infeksiusnya rendah (10-100 organisme) sudah dapat menyebabkan sakit. Antibiotik sintetis dapat menyebabkan efek samping.

Beberapa penelitian mengenai daun tanaman di Indonesia telah banyak dilakukan dan memiliki cara yang beragam dalam penggunaannya. Ekstrak etanol daun gandola atau binahong (*Basella alba*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Oyewole and Kalejaiye, 2012). Ekstrak metanol daun bakung (*Hymenocallis littoralis*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* (Singh *et al.*, 2016). Ekstrak etanol dan metanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* (Biswas *et al.*, 2013). Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) yang dihasilkan oleh ekstrak etil asetat, n-heksan, dan ekstrak etanol 96% (Safita *et al.*, 2015). Ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica L.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Manu, 2013).

Ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* (Mardianingsih and Aini, 2014). Ekstrak air, aseton dan etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica Linn*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella paratyphi*, *Bacillus subtilis* dan *Salmonella typhi* (Doughari, 2006). Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* (Lam)) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Steptococcus pneumoniae*) dan Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia*) (Kalpana and Moorthi, 2013). Ekstrak heksan daun nilam (*Patchouli* (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap

bakteri *Enterobacter aerogenes* (Pullagummi *et al.*, 2014). Ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, dan *Escherichia coli* (Uddin *et al.*, 2007). Daun sembukan (*Paederia foetida* L.) di daerah Lamongan biasa digunakan sebagai sayur dan lalapan karena daun sembukan mudah diperoleh dan juga dapat digunakan untuk mengobati diare atau disentri. Penyebab diare atau disentri terkadang disebabkan oleh bakteri. Saat ini belum ada penelitian aktivitas antibakteri pada daun sembukan sehingga perlu dilakukan penelitian pada daun tersebut.

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian tentang skrining ekstrak etanol 70% beberapa daun tanaman di Indonesia terhadap bakteri *Shigella sonnei*.

2. METODE

2.1 ALAT DAN BAHAN

2.1.1 Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu alat-alat gelas (Pyrex), cawan porselein, *Erlenmeyer*, penangas air (Memmert), *incubator shaker* (Exella 24 New Brunswick Scientific), ose steril, inkubator (Memmert), bunsen, rak tabung, vortex (Thermolyne Corporation), LAF (Laminar Air Flow), mikroskop (Olympus), autoklaf (My Life), oven (Memmert), cawan petri, neraca analitik, mikropipet (Socorex) 100-1000 μL , mikropipet (Socorex) 10-50 μL , mikropipet (Socorex) 20-200 μL , *rotary evaporator* (Stuart), pipet tetes, pinset steril, *spreader glass*, *deck glass*, *object glass* dan penjepit, *chamber*.

2.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah beberapa daun tanaman di Indonesia yang diperoleh dari daerah Kabupaten Nganjuk, Lamongan, Tulungagung, dan Sragen, etanol 70%, media MH (*Mueller Hinton*), *yellow tips*, *blue tips*, akuades, media BHI (*Brain Heart Infusion*), *Shigella sonnei* ATCC 25931 dari Laboratorium Kesehatan Jogja, n-butanol, asam asetat glasial, dan air, media KIA (*Kligler Iron Agar*), media LIA (*Lysine Iron Agar*), media SIM (*Sulfide Indole Motility*), metanol, etil asetat, asam borat, asam oksalat, eter, FeCl_3 , HCl 2N, *wash benzen*, kertas saring, lempeng Silika gel GF₂₅₄.

2.2 PEMBUATAN EKSTRAK

Serbuk kering 100 gram diekstraksi dengan metode maserasi selama 72 jam (3 hari). Setelah itu disaring dan diuapkan menggunakan evaporator selama 1 jam kemudian diletakkan diatas

waterbath, sehingga dihasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat dibuat konsentrasi sebesar 20%.

2.3 UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Metode difusi dilakukan dengan cara mengambil 200 μl suspensi bakteri dari BHI yang kekeruhannya sudah disesuaikan dengan standar Mc Farland, kemudian diratakan dengan speader glass pada cawan petri yang berisi media *Mueller Hinton Agar* (MHA) sampai rata. Disk kosong diresapkan sebanyak 15 μl dari stok 20% tiap ekstrak pada media tersebut. Satu disk untuk kontrol positif (antibiotik), satu disk untuk kontrol negatif (DMSO) dan disk yang lain berisi resapan ekstrak yang diuji dengan konsentrasi 20%, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati diameter zona hambat (mm).

2.4 IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA

2.4.1 Skrining Fitokimia

1) Uji flavonoid

a. Larutan Tes

Ekstrak daun jambu biji sebanyak 5 mL ditambahkan dalam 10 mL metanol, dipanaskan pada *waterbath* selama 10 menit. Filtrat disaring dalam keadaan panas, diencerkan dengan 10 mL aquadest dan dinginkan. Wash benzen ditambahkan sebanyak 5 mL, dikocok perlahan, diletakkan pada rak selama beberapa menit sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (metanol) diambil, diuapkan. Residu dilarutkan dalam 5 mL etil asetat dan disaring.

b. Tes Taubbeck

Larutan tes diuapkan sebanyak 1 mL, residu dibasahi dengan aseton. Asam borat dan asam oksalat (serbuk) ditambahkan sedikit. Residu dipanaskan hati-hati dalam *waterbath*, jangan terlalu panas. Residu yang dihasilkan dicampur dengan 2 mL eter. Fluoresensi kuning mengindikasikan flavonoid dalam sampel setelah dilihat pada UV 366 nm.

c. Uji saponin

Ekstrak daun jambu biji dimasukkan sebanyak 5 mL kedalam tabung, kemudian ditambahkan 10 mL akuades panas. Larutan didinginkan dan dikocok dengan tangan selama 10 menit. Sampel diambil sebanyak 1 mL kemudian diencerkan dengan 10 mL akuades, dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Busa stabil yang dihasilkan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 N mengindikasikan adanya saponin.

d. Uji tanin

a) FeCl₃

Ekstrak daun jambu biji dimasukkan sebanyak 1 mL kedalam tabung. Larutan FeCl₃ ditambahkan sebanyak 2 mL. Jika berubah menjadi biru-hijau atau hitam, mengindikasikan adanya tanin.

b) Gelatin

Ekstrak daun jambu biji sebanyak 0,2 g dilarutkan dengan 10 mL akuades, kemudian dipanaskan di atas waterbath selama 30 menit. Larutan disaring kemudian filtrat diambil sebanyak 5 mL dan ditambahkan 1 mL NaCl 2%. Filtrat disaring dengan kertas saring dan ditambah 5 mL gelatin 1%. Jika terdapat endapan mengindikasikan adanya tanin.

2.4.2 Kromatografi Lapis Tipis

Fase diam yang digunakan silika gel GF₂₅₄ diaktifkan terlebih dahulu dengan cara dipanaskan pada suhu 110°C selama 15 menit. Larutan uji ditotolkan pada fase diam sebanyak 10 kali totolan, setiap totolan dibiarkan sampai kering kemudian dielusi dengan fase gerak Butanol : Asam asetat : Air (4 : 1 : 5) v/v/v fase atas dengan jarak pengembangan 6,5 cm. Analisis hasil KLT dengan cara lempeng yang telah dielusi diamati bercaknya pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Kemudian bercak dideteksi dengan beberapa pereaksi semprot antara lain FeCl₃, vanillin asam sulfat, sitroborat, Dragendorff dan Liebermann Burchard.

2.5 Uji bioautografi

Senyawa aktif yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dideteksi menggunakan metode bioautografi dengan cara lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan pada permukaan media MH dalam Petri yang telah diinokulasi dengan bakteri selama 20 menit dan selanjutnya lempeng KLT yang telah dielusi diambil. Kemudian media MH diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Bila bercak-bercak pada lempeng-lempeng KLT tersebut memiliki aktivitas antibakteri maka dengan adanya difusi golongan senyawa aktif akan berbentuk zona jernih yang merupakan zona hambatan.

2.6 Analisis Hasil

Membandingkan besarnya diameter zona hambat antar ekstrak yang diujikan, kemudian dilanjutkan untuk uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan uji Bioautografi.

3.HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Penyarian

Penyarian beberapa daun tanaman di Indonesia menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Merasasi merupakan proses penyarian simplisia dengan metode perendaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar) (DepKes RI, 2000). Proses maserasi hanya dilakukan satu kali tanpa adanya pengulangan. Pemekatan ekstrak menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 60°C selama 1 jam, tingginya suhu dapat mempengaruhi hasil ekstraksi yang dimungkinkan dapat merusak zat aktif yang terkandung. Hasil penyarian dan rendemen ekstrak (Tabel 1). Rendemen ekstrak terbesar diperoleh daun kelor yaitu sebesar 13,39 %. Daun jambu biji mempunyai rendemen terendah sebesar 6,80 %.

Tabel 1. Hasil penyarian dan rendemen ekstrak.

Daun	Bobot		
	Serbuk (g)	Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Sembukan	99,97	11,20	11,20
Asam Jawa	100,02	12,73	12,73
Binahong	100,05	10,74	10,73
Bakung	100,25	9,82	9,80
Jambu Biji	100,17	6,81	6,80
Kenikir	99,98	11,57	11,57
Pandan Wangi	100,19	9,05	9,03
Beluntas	100,03	12,45	12,45
Nilam	99,26	9,73	9,80
Kelor	99,48	13,93	13,93

3.2 Hasil Skrining Uji Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan skrining uji aktivitas antibakteri semua daun mempunyai aktivitas antibakteri, tetapi zona hambat yang dihasilkan berbeda-beda. Daun yang mempunyai aktivitas antibakteri kecil yaitu daun sembukan, gandola atau binahong, bakung, kenikir, pandan wangi, kelor dan beluntas, sedangkan daun yang mempunyai aktivitas antibakteri besar adalah daun asam jawa, jambu biji dan nilam. Konsentrasi ekstrak etanol 70% daun pada uji skrining aktivitas antibakteri masing-masing dibuat 20% (200 mg/mL). DMSO digunakan sebagai kontrol negatif (-) dan Kloramfenikol 30 µg digunakan sebagai kontrol positif (+) (Tabel 2). Kloramfenikol termasuk antibiotik berspektrum luas sehingga dapat digunakan pada bakteri Gram positif atau negatif. Antibiotik kloramfenikol bekerja menghambat sintesis protein pada sel bakteri. Kloramfenikol akan berikatan secara reversibel dengan unit ribosom 50 S, sehingga dapat mencegah ikatan antara asam amino dan ribosom. Antibiotik ini berikatan secara spesifik dengan akseptor (tempat ikatan awal dari amino asil T-RNA) atau pada bagian peptidil yang merupakan tempat ikatan kritis untuk perpanjangan rantai peptida (Katzung, 1998).

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% beberapa daun tanaman di Indonesia terhadap *Shigella sonnei*

Sampel	Zona hambat (mm)
	Rata-Rata ± SD
K(-) DMSO	6,0 ± 0,0
K(+) Kloramfenikol 30µg	21,3 ± 0,3
Ekstrak daun sembukan	6,3 ± 0,6
Ekstrak daun asam jawa	9,3 ± 0,6
Ekstrak daun gondola/binahong	6,3 ± 0,3
Ekstrak daun spider lily	6,5 ± 0,0
K(-) DMSO	6,0 ± 0,0
K (+) Kloramfenikol 30µg	21,0 ± 0,5
Ekstrak daun jambu biji	10,7 ± 0,6
Ekstrak daun kenikir	6,5 ± 0,0
Ekstrak daun pandan wangi	6,8 ± 0,3
K(-) DMSO	6,0 ± 0,0
K (+) Kloramfenikol 30µg	21,3 ± 0,3
Ekstrak daun kelor	7,0 ± 0,5
Ekstrak daun nilam	9,8 ± 1,4
Ekstrak daun beluntas	6,3 ± 0,6

Hasil skrining aktivitas didapatkan ekstrak daun yang memiliki diameter zona hambat terbesar yaitu ekstrak etanol 70% daun jambu biji. Rata-rata diameter zona hambat daun jambu biji yang dihasilkan yaitu $10,7 \pm 0,6$ mm dengan konsentrasi 20% (200 mg/mL) sebesar 15 µL/disk. Pada penelitian sebelumnya oleh Bansode and Chavan (2014), ekstrak etanol daun jambu biji memiliki zona hambat sebesar 5 mm dengan konsentrasi ekstrak 25% terhadap bakteri *Shigella sonnei*. Hal ini memang menunjukkan adanya daya antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak daun jambu biji. Dengan dihasilkannya zona hambat terbesar oleh daun jambu biji pada skrining aktivitas antibakteri penelitian ini, maka dilanjutkan pada uji selanjutnya yaitu uji biautografi.

3.3 Hasil Uji Identifikasi Senyawa Kimia

3.5.1 Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol 70% daun jambu biji diidentifikasi adanya beberapa golongan senyawa yaitu saponin, tanin dan flavonoid (Tabel 3). Uji adanya tanin ditandai dengan warna hitam pada larutan setelah ditetesi FeCl_3 . Menurut Jork et al., (1990) tanin dengan larutan FeCl_3 akan membentuk kompleks yang berwarna biru sampai hitam. Uji tanin menggunakan larutan gelatin 1 % ditandai dengan adanya endapan gelatin pada sampel, sehingga sampel tersebut benar mengandung tanin. Pada uji saponin ditandai dengan adanya busa sebelum ditetesi HCl 2N didapatkan tinggi busa sebesar $\pm 2\text{cm}$ sedangkan setelah ditetesi HCl 2N didapatkan tinggi busa $\pm 1,5$ cm tetapi busa yang ada tetap stabil. Uji senyawa flavonoid dengan

menggunakan asam borat dan asam oksalat, dilihat pada UV 366 nm jika sampel mengandung senyawa flavonoid, maka akan memberikan fluoresensi berwarna kuning-kehijauan.

Tabel 3. Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol 70% dari daun jambu biji

Ekstrak	Tanin	Saponin	Flavonoid
Etanol 70% daun jambu biji	+ (FeCl ₃) + (Gelatin)	+	+

Dari penelitian ini, diidentifikasi adanya golongan senyawa tanin, saponin dan flavonoid. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun jambu biji diketahui mempunyai kandungan kimia flavonoid, tanin, saponin, steroid, quinon, dan polifenol (Daud *et al.*, 2002). Hasil penelitian Thompson *et al.* (2012) ekstrak etanol daun jambu biji mempunyai kandungan kimia steroid, terpenoid, dan flavonoid yang didapatkan melalui skrining fitokimia. Ekstrak etanol daun jambu biji diidentifikasi dengan skrining fitokimia didapatkan kandungan kimia alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, dan saponin (Tambe *et al.*, 2014). Hasil penelitian Rao (2015) ekstrak etanol daun jambu biji mempunyai kandungan kimia flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid.

3.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase gerak yang digunakan untuk memisahkan senyawa pada KLT yaitu B : A : W (butanol : asam asetat : air) (4 : 1 : 5 v/v/v) fase atas. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk KLT adalah 10 % dengan 10 totolan. Pada pengamatan visual terdapat bercak berwarna coklat pada Rf 0,06 dan 0,12 dan pada Rf 0,90. Pengamatan dibawah lampu UV 254 nm terjadi pemadaman pada semua bercak dan pada lampu UV 366 nm terjadi fluoresensi berwarna biru pada Rf 0,6;0,12;0,70;0,80 dan terlihat adanya warna oranye pada Rf 6 : 0,90. Pereaksi semprot yang digunakan untuk pengamatan kandungan senyawa yaitu Dragendorff, vanillin-Asam sulfat, FeCl₃, Lieberman-Buchard dan sitroborat.

Hasil KLT menunjukkan daun jambu biji mengandung senyawa terpenoid, saponin, tanin dan flavonoid. Pada Rf 0,06 dan 0,12 dengan pereaksi semprot vanillin-asam sulfat menghasilkan warna coklat dan dengan pereaksi semprot LB menghasilkan warna ungu kehitaman. Adanya saponin ditunjukkan dengan warna biru, ungu, merah dan kuning-coklat setelah disemprot dengan menggunakan vanillin-asam sulfat (Wagner and Baldt, 1996). Menurut Wagner and Baldt (1996) adanya saponin ditunjukkan dengan warna ungu setelah disemprot dengan menggunakan LB. Pada Rf 0,80 dan 0,84 dengan pereaksi FeCl₃ menghasilkan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Menurut Harborne (1987) adanya tanin ditunjukkan dengan perubahan warna biru kehitaman, hijau atau biru kehijauan. Pada Rf 0,84 dengan pereaksi Sitroborat menghasilkan fluoresensi kuning-hijau pada UV 366 nm. Menurut Markham

(1982) adanya senyawa flavonoid ditandai dengan perubahan warna kuning kehijauan setelah disemprot dengan pereaksi sitroborat. Pada Rf 0,90 dengan pereaksi vanillin-asam sulfat menghasilkan warna biru. Menurut Sulistijowati and Gunawan (2001) adanya senyawa terpenoid akan menunjukkan bercak berwarna biru sampai ungu. Hasil analisis Kromatografi Lapis Tipis dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis ekstrak etanol 70% daun jambu biji

Rf	Bercak sebelum disemprot		Deteksi pereaksi semprot					Senyawa
	Sinar UV (nm)		Dragendorff	Vanillin-H ₂ SO ₄	FeCl ₃	LB	Sitroborat	
	254	366	Vis	Vis	Vis	Vis	UV 366 nm	
0,06	P	-	-	C	-	U-H	-	Saponin, senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi
0,12	P	-	-	C	-	U-H	-	Saponin, senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi
0,70	P	-	-	-	-	-	-	
0,80	P	-	-	-	H-H	-	-	Tanin
0,84	P	-	-	K-H	H-H	-	K-H	Flavonoid, Tanin
0,90	P	O	-	B	-	-	-	Terpenoid

Keterangan :

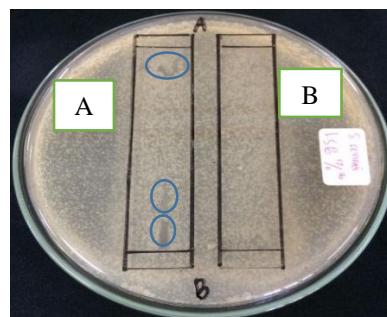
B : Biru	LB : Lieberman-Bauchard	C : Coklat
O : Oranye	K-H : Kuning kehijauan	H-H : Hijau kehitaman
P : Pemadaman	V : Visual (sinar tampak)	

Dari penelitian ini diidentifikasi adanya golongan senyawa saponin, tanin, flavonoid dan terpenoid. Isolasi dan identifikasi secara spektrofotometri UV-cahaya sinar tampak daun jambu biji diduga mengandung senyawa flavonoid golongan flavon, flavonol (3-OH tersubstitusi), flavonol (3-OH bebas) dan khalkon (Aziz and Djamil, 2013). Isolasi dengan spektrofotometri FTIR pada ekstrak daun jambu biji teridentifikasi adanya flavonoid yaitu golongan senyawa flavon yang memiliki gugus fungsi yaitu CH alifatik, CH aromatik, C = C aromatik, C = O dan OH (Maulana *et al.*, 2016). Ekstrak metanol daun jambu biji pada uji KLT dengan fase gerak etil asetat : metanol (7 : 3) mempunyai kandungan kimia steroid, glikosid, tanin, dan sponin (Sarkar *et al.*, 2011). Ekstrak etanol daun jambu biji dengan uji KLT menggunakan fase gerak toluen : aseton : asam asetat glasial (3 : 1 : 2) mempunyai kandungan kimia tanin (Rao, 2015). Dari hasil penelitian lain, belum dilaporkan adanya senyawa dari golongan senyawa saponin dan tanin.

3.6 Hasil Uji Bioautografi

Berdasarkan hasil uji bioautografi pada *Shigella sonnei* terdapat zona jernih (adanya hambatan) pada Rf 0,06 ; 0,12 ; 0,84, senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri yaitu saponin, flavonoid dan tanin (Gambar 1). Senyawa yang ada pada daun jambu biji golongan saponin adalah senyawa guajanoic acid, β-sitosterol, uvaol, oleanolic acid dan ursolic acid (Begum *et al.*, 2014). Menurut Madduluri *et al.* (2013) mekanisme kerja senyawa saponin sebagai antibakteri

yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaan mirip dengan detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin dapat berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini yang menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian.



Gambar 1. Hasil uji ekstrak etanol 70% daun jambu biji terhadap bakteri *Shigella sonnei*.

Keterangan :

A : Hasil elusi ekstrak etanol 70% daun jambu biji

B : Kontrol negatif

Senyawa yang ada pada daun jambu biji golongan tanin adalah senyawa ellagetannins, gallotannins and tannic acid (Min *et al.*, 2008). Mekanisme kerja tanin dalam kemampuannya sebagai antibakteri yaitu tanin mampu menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995). Tanin juga merupakan senyawa yang bersifat lipofilik sehingga mudah terikat pada dinding sel dan mengakibatkan kerusakan dinding sel. Tanin merupakan suatu senyawa organik yang aktif menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme merusak dinding sel bakteri dan membentuk ikatan dengan protein fungsional bakteri (Sudira *et al.*, 2011).

Senyawa yang ada pada daun jambu biji golongan flavonoid sebagai aktivitas antibakteri adalah senyawa morin-3-O-lyxoside, morin-3-O-arabinoside, quercetin, dan quercetin-3-O-arabinoside (Wang *et al.*, 2014). Menurut Cowan (1999) aktivitas flavonoid sebagai antibakteri adalah flavonoid mampu membentuk kompleks dengan cairan diluar sel dan protein-protein yang terlarut serta dinding sel bakteri, sehingga bagian sel tersebut akan rusak dan kehilangan fungsinya.

Kekurangan dari penelitian ini adalah senyawa pada ekstrak masih bercampur antara senyawa yang bersifat polar, non polar dan semi polar, sehingga sulit untuk mengetahui sifat senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri. Metode difusi kirby bauer merupakan metode

tahap awal untuk skrining aktivitas antibakteri, sehingga tidak dapat diketahui konsentrasi minimal daya hambat aktivitas antibakteri.

4.PENUTUP

4.1 Kesimpulan

1. Skrining aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% beberapa daun tanaman di Indonesia terhadap bakteri *Shigella sonnei* mendapatkan hasil zona hambat rata-rata pada masing-masing daun yaitu ekstrak daun sembukan $6,3 \pm 0,6$ mm, ekstrak daun asam jawa $9,3 \pm 0,6$ mm, ekstrak daun gandola atau binahong $6,3 \pm 0,3$ mm, ekstrak daun spider lily $6,5 \pm 0$ mm, ekstrak daun jambu biji $10,7 \pm 0,6$ mm, ekstrak daun kenikir $6,5 \pm 0$ mm, ekstrak daun pandan wangi $6,8 \pm 0,3$ mm, ekstrak daun kelor $7 \pm 0,5$ mm, ekstrak daun nilam $9,8 \pm 1,4$ mm dan ekstrak daun beluntas $6,3 \pm 0,6$ mm.
2. Skrining aktivitas antibakteri menunjukkan rata-rata zona hambat terbesar dihasilkan oleh ekstrak etanol daun jambu biji dengan rata-rata zona hambat $10,7 \pm 0,6$ mm.
3. Golongan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji terhadap *Shigella sonnei* yaitu flavonoid, saponin dan tanin.

4.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan fraksinasi ekstrak etanol daun jambu biji untuk mengetahui kandungan senyawa, agar didapat kandungan senyawa yang lebih spesifik.
2. Perlu dilakukan skrining uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode lain seperti metode dilusi padat untuk mengetahui Minimum Inhibitory Concentration (MIC) sehingga diketahui konsentrasi minimum terhadap bakteri *Shigella sonnei*.

DAFTAR PUSTAKA

Aziz, Z. and Djamil, R., 2013, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Fraksi n-butanol dari Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.), *Prosiding Seminar Nasional LUSTRUM X Fakultas Farmasi Universitas Pancasila*.

Bansode, D.S. and Chavan, M.D., 2014, Screening of Guava (*Psidium guajava*) for Effective Phytomedicines and Study on its Antimicrobial effect against Selected Enteric Pathogens, *Internasional Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 3, 802–806.

Begum, S., Hassan, S.I., Ali, S.N., and Siddiqui, B.S., 2014, Chemical Constituents of the Leaves of *Psidium guajava*, *Natural Product Research*, 18, 135–140.

Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D. and Yadav, A., 2013, Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria, *Internasional Journal Microbiology*, 2013.

- Cowan, M.N., 1999, *Plant Produg as Antimicrobial Agent*, Miamy University, Oxford.
- Daud, M.F., Sayidah, E.R. and Rismawati, E., 2002, Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*), *Prosiding SNaPP2011 Sains, Teknologi dan Kesehatan*, 55–62.
- Ditjen, P., 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Dep Kes RI, Jakarta.
- Doughari, J.H., 2006, Antimicrobial Activity of *Tamarindus indica* Linn, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5, 597–603.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Jork, H., Funk, W., Fischer, W., Wimmer, H., Jork, H., Funk, W., Fischer, W., Wimmer, H., 1990, *Thin-Layer Chromatography*, VCH Publisher, USA.
- Kalpana, S., Moorthi, S., 2013, Original Research Article Antimicrobial activity of different extracts of leaf of *Moringa oleifera* (Lam) against gram positive and gram negative bacteria, *Internasional Journal Current Microbiology and Applied Sciences*, 2, 514–518.
- Katzung, B., 1998, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Madduluri, S., Rao, K.B. and Sitaram, B., 2013, In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts against Five Bacteria Pathogens of Humans, *Internasional Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Scieneces*.
- Manu, R.R.S., 2013, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2, 1–10.
- Mardianingsih, A. and Aini, R., 2014, Pengembangan Potensi Ekstrak Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) sebagai Agen Antibakteri, *Pharmaçiana*, 4, 185–192.
- Maulana, E.A., Asih, I.A.R.A., Arsa, M., 2016, Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* Linn), *Jurnal Kimia*, 10, 161–168.
- Markham, K.R., 1982, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Min, B.R., Pinchak, W.E., Merkel, R., Walker, S., Tomita, G., Anderson, R.C., 2008, Comparative Antimicrobial Activity of Tannin Extracts from Perennial Plants on Mastitis Pathogens, *Science Research and Essay*, 3, 66–73.
- Oyewole, O.A. and Kalejaiye, O.A., 2012, The Antimicrobial Activities of Ethanolic Extracts of *Basella alba* on Selected Microorganisms, *Scientific Journal of Microbiology*, 1, 113–118.
- Pullagummi, C., Rao, N.B., Singh, B.C.S., Jyothi, A., Kumar, P., Venkatesh, K. and Rani, A.R., 2014, Comparitive Studies on Antibacterial Activity of Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth] and Geranium (*Pelargonium graveolens*) Aromatic Medicinal Plants, *African Journal of Biotechnology*, 13, 2379–2384.
- Ranjbar, R., 2008, Increased Isolation and Characterization of *Shigella sonnei* Obtained from

Hospitalized Children in Tehran, *Journal Health Popular Nutition*, 26, 426–430.

Rao, C.S., 2015, Evaluation of Anti-Bacterial Activity with Tannin Fraction from *Psidium guajava* Leaves and Barks, *Journal of Pharmacognocny Phytochemistry*, 3, 1–9.

Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Safita, G., Rismawati, E., Sakti, E. and Syafnir, L., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, *Prosiding Penelitian Spesia Unisba*, 421–428.

Singh, G., Saxena, R.K. and Singh, N.K., 2016, Screening of Potential Antimicrobial Activity of Indian Medicinal Plant of Different Solvent Extract: *Tinospora cordifolia* and *Hymenocallis littoralis*, *Internasional Research Journal of Engineering and Technology*, 03, 928–932.

Sudira, I.W., Merdana, I. and Wibawa, I., 2011. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kedondong (*Lamnea grandis* Engl) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Erwinia carotovora*, *Buletin Veteriner Udayana*.

Sulistijowati, A. and Gunawan, D., 2001, Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) Terhadap *Candida albicans* serta Profil Kromatografinya, *Cermin Dunia Kedokteran*.

Tambe, R., Singhal, R.G., Bhise, K., Kulkarni, M., 2014, Phytochemical Screening and HPTLC Fingerprinting of Leaf Extracts of *Psidium guajava* Linn, *Journal Pharmacogn. Phytochem*, 3, 52–56.

Thompson, S., Ashok, A., K., S., 2012, Screening of *Psidium guajava* for Effective Phytomedicines and Study on ITS Antibacterial Effect Against Dental Caries Bacteria, *Int. Journal of Pharm. Pharm. Sci*, 4.

Uddin, B., Nahar, T., Khalil, M.I. and Hossain, S., 2007, In vitro antibacterial activity of the ethanol extract of *Paederia foetida* L. (Rubiaceae) leaves, *Bangladesh Journal Life Sciences*, 19, 141–143.

Wagner, H. and Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, Heidelberg, Berlin.

Wang, F., Chen, Y., Zhang, Y., Deng, G., Zou, Z., Li, A., 2014, Chemical Components and Bioactivities of *Psidium guajava*, *Internasional Journal of Food Nutrition Safety*, 5, 98–114.