

POTENSI ANTIBAKTERI FRAKSI N-HEKSAN YANG TIDAK AKTIF TERHADAP *Artemia salina* DARI KAYU BATANG *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf Var. Visenia

Zulkarnaim*, Nunuk Hariani Soekamto, Seniwati Dali

Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin
Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin,
Jl. Perintis Kemerdekaan KM 10, Tamalanrea Makassar, Indonesia 90245
Email*: znaimh@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian isolasi metabolit sekunder fraksi n-heksan yang tidak aktif terhadap *Artemia salina* dari kayu batang *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. Visenia dan uji bioaktivitasnya sebagai antibakteri telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa dari fraksi n-heksan yang tidak aktif terhadap *A. salina* dan menentukan aktifitas antibakterinya terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstraksi dan fraksinasi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut n-heksan kemudian difraksinasi dengan KKV. Hasil BST menunjukkan fraksi B, D, dan F tidak aktif terhadap *A. salina*. Zona hambat terbesar terhadap bakteri *S. aureus* dimiliki oleh fraksi D yaitu sebesar 9 mm dan terhadap bakteri *E. coli* dimiliki oleh fraksi B yaitu sebesar 10 mm.

Kata kunci: Melochia umbellata, antibakteri, A. salina, dan fraksi n-heksan

ABSTRACT

Research on isolation of secondary metabolites of inactive n-hexane fraction against *Artemia salina* from stem wood *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. Visenia and bioactivity test as antibacterial has been done. This study aimed to isolate and identify compounds of inactive n-hexane fraction against *A. salina* and to determine the antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*. Extraction and fractionation was done by maceration using n-hexane then fractionated with VCC. BST results show the fractions B, D, and F are inactive against *A. salina*. The largest inhibition zone against *S. aureus* is belong to fraction D is equal to 9 mm and against *E. coli* bacteria belong to fraction B is equal to 10 mm.

Keywords: Melochia umbellata, antibacterial, A. salina, and n-hexane fraction

PENDAHULUAN

Perkembangan penyakit meningkat dari tahun ke tahun, dan banyak obat yang beredar saat ini sudah tidak mampu lagi mengatasi jenis penyakit tersebut. Salah satunya yaitu penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Timbulnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik merupakan masalah perlu diperhatikan. Salah satu alternatif yang dapat ditempuh adalah memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terdapat dalam tanaman obat (Ventola, 2015).

Di Indonesia penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional telah dilakukan oleh masyarakat sejak ribuan tahun sebelum ditemukannya obat modern (Dewoto, 2007). Salah satu tumbuhan obat yang digunakan oleh masyarakat di Indonesia adalah paliasa (Tayeb dkk., 2007).

Paliasa merupakan salah satu tumbuhan dari famili Malvaceae yang digunakan oleh masyarakat khususnya di Sulawesi Selatan sebagai obat yang mampu mengobati penyakit liver, hipertensi, diabetes, kolesterol tinggi dan hepatitis dengan cara meminum air rebusan daunnya (Raflizar dkk, 2006). Terdapat dua jenis paliasa yang termasuk dalam genus *Melochia*, yaitu *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* dan *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia* (Tayeb dkk., 2007). Pada bagian Ekstrak n-heksan daun *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* sangat aktif menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat 11.45 mm

pada konsentrasi 20.000 ppm (Wullur dkk, 2015). Senyawa turunan oleanan 3 -asetil-olean-12-en-28-olat diisolasi dari ekstrak n-heksan kulit batang *M. umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* bersifat kurang toksik terhadap *A. salina* dengan nilai $LC_{50} = 361,93 \mu\text{g/mL}$, tetapi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* (Usman dkk., 2015). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa dari fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* memiliki potensi sebagai antibakteri.

Berdasarkan uraian di atas diketahui bahwa telah banyak dilakukan penelitian tentang tumbuhan paliasa namun, penelitian terkait pencarian senyawa bahan alam dan aktivitas antibakteri pada spesies *M. umbellata* varietas *Visenia* masih sangat kurang. Oleh sebab itu, dilakukan penelitian mengenai isolasi metabolit sekunder fraksi n-heksan yang tidak aktif terhadap artemia salina dari kayu batang *Melochia umbellata* (houtt.) stapf var. *Visenia* dan bioaktivitasnya sebagai antibakteri.

METODOLOGI DAN HASIL

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi serbuk kayu batang *M. umbellata*, akuades, kloroform p.a., pelarut-pelarut yang dimurnikan seperti metanol, etil asetat, n-heksan, dan aseton. Silika gel Merck 60 GF254 dengan nomor katalog 7730, 7733, dan 7734, pelat berlapis Si gel Merck Kieselgel 60 GF254, H_2SO_4 96%, akuades, dimetil sulfoksida (DMSO), garam laut sea salt dengan nomor katalog S-9883, telur udang *A. salina*, HgCl_2 , KI, BiNO_3 , HCl 37%, Serbuk Mg, anhidrida asetat, FeCl_3 5%, kertas cakram 3 mm, akuabides, nutrien broth, nutrien agar,

larutan Mc. Farland, Paper disc, amoxicilin, stok bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Alat

Alat yang digunakan terdiri dari beberapa alat-alat gelas yang umum dipakai di laboratorium, corong Buchner, plat tetes, mikropipet, mikroplate, tabung ependorf, lampu, wadah penetasan benur udang, shaker, inkubator, autoklaf, ose, cawan petri, jangka sorong, chamber, pipa kapiler, kolom kromatografi vakum (KKV), oven, lampu UV, neraca digital, *rotary evaporator*.

Prosedur Kerja dan Hasil

A. Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Kayu batang *M. umbellata* dikumpulkan di Desa Baring Kecamatan Sigeri Kabupaten Pangkajene dan Kepulauan.

B. Preparasi Sampel

Kayu batang *M. umbellata* dipotong kecil-kecil hingga seukuran korek api kemudian dikeringkan. Sampel yang telah kering digiling sampai membentuk serbuk kayu di labortorium Pengolahan dan Pemanfaatan Hasil Hutan Universitas Hasanuddin. Berat serbuk kayu hasil penggilingan adalah 4.6 kg.

C. Ekstraksi dan identifikasi

Sebanyak 4,6 kg serbuk kering kayu batang *M. umbellata* dimaserasi dengan n-heksana selama 1 x 24 jam sebanyak 5 kali. Maserat kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental hasil evaporasi berwarna coklat dan berbobot 9,854 gram. Ekstrak kental

diuji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata*. Hasil uji fitokimia menunjukkan dalam ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* terdapat senyawa golongan alkaloid, terpenoid, fenolik, flavonoid dan steroid.

Ekstrak kental selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan KKV eluen n-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol yang ditingkatkan kepolarannya. Hasil fraksinasi yang diperoleh sebanyak 12 fraksi dan digabung menjadi 10 fraksi utama (fraksi A-J) berdasarkan profil noda yang mirip.

Hasil fraksinasi selanjutnya diuji bioaktivitasnya terhadap *A. salina* dengan menggunakan metode BST (Meyer, dkk., 1982). Nilai LC₅₀ fraksi A-J terhadap *A. salina* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Berat dan nilai LC₅₀ terhadap *A. salina* hasil fraksinasi ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata*

Frakasi	LC ₅₀ (ppm)	Berat (mg)
A	68,9	3696,9
B	108,5	39,3
C	66,9	32,1
D	801,7	21,0
E	73,2	40,1
F	200,7	1710,7
G	37,8	654,8
H	28,5	88
I	29,7	3268,4
J	23,4	253,4

Fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* diuji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi-fraksi tersebut. Hasil uji fitokimia terhadap fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia fraksi-fraksi yang tak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata*

Golongan senyawa	Fraksi		
	B	D	F
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	++	+	+
Fenolik	+	-	-
Steroid	+	+	-
Triterpenoid	+	+	+

Keterangan: - : negatif
+ : positif
++ : positif kuat

D. Uji Antibakteri

Pembuatan media untuk bakteri

Media *nutrient agar* dibuat dengan cara mencampur 23 g *nutrient agar* dengan 1000 ml air suling dan dididihkan sampai melarut sempurna, dimasukkan ke dalam botol untuk disterilisasi dengan autoklaf. *Nutrient broth* sebanyak 8 g dicampurkan ke dalam 1000 ml air kemudian disterilisasi dengan autoklaf.

Pembuatan suspensi bakteri

Suspensi bakteri dalam media cair setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C diaduk menggunakan vortex, kepekatan suspensi bakteri disesuaikan dengan larutan Mc. Farland 0.5 menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm.

Preparasi sampel

Sampel pada uji antibakteri merupakan fraksi yang bersifat tidak aktif terhadap *A. Salina* (fraksi B, D, dan F). Amoxilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif.

0.5 mg sampel dilarutkan dengan 100 µL DMSO, kemudian ditambahkan 400 µL akuades sehingga konsentrasi larutan menjadi 1000 ppm. Dipipet 50 µL dari larutan sampel 1000 ppm kemudian ditambahkan akuades sebanyak 450 µL sehingga konsentrasi larutan menjadi 100 ppm. Dipipet 50 µL dari larutan sampel 100 ppm kemudian ditambahkan akuades sebanyak 450 µL sehingga konsentrasi larutan menjadi 10 ppm.

Pengujian aktivitas antibakteri

Sebanyak 50 µl masing-masing suspensi bakteri ke dalam 15 ml media agar yang telah di cairkan dalam cawan petri steril dan kemudian dibiarkan menjadi padat. Cakram kertas direndam dalam sampel kemudian diletakkan pada permukaan media padat. Media padat dimasukkan ke inkubator dengan suhu 37⁰ C selama 24 jam. Penentuan aktivitas antibakteri didasarkan pada hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk disekitar cakram kertas. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

Hasil Uji Antibakteri

Data uji antibakteri fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Data hasil uji antibakteri *S. aureus*

Sampel	Diameter zona hambat (mm)		
	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
Fraksi B	3,50	5,00	7,75
Fraksi D	1,25	2,00	9,00
Fraksi F	-	1,50	6,25
Amoxicilin	1,50	4,00	10,25
DMSO	-	-	-

Tabel 4. Data hasil uji antibakteri *E. coli*

Sampel	Diameter zona hambat (mm)		
	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
Fraksi B	7,00	9,50	10,00
Fraksi D	4,50	7,50	8,75
Fraksi F	7,50	8,00	9,50
Amoxicilin	9,00	10,50	10,75
DMSO	-	-	-

PEMBAHASAN

Pengujian antibakteri fraksi-fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* dilakukan untuk membuktikan efek antibakteri dari fraksi-fraksi tersebut sebagai obat untuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Sifat antibakteri dapat digolongkan sangat kuat apabila zona hambat lebih dari 20 mm, zona hambat 10-20 mm termasuk kategori kuat, zona hambat 5-10 mm termasuk kategori sedang dan zona hambat 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah. Data pada Tabel 3 dan 4 menunjukkan bahwa daya hambat fraksi B, D, dan F tidak jauh berbeda dengan amoxicillin, sehingga memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibakteri.

Aktivitas antibakteri fraksi B, D, dan F terhadap *S. aureus* lebih kecil dibandingkan terhadap *E. coli*. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan sifat sel *S. aureus* sebagai bakteri gram positif dan *E. coli* sebagai bakteri gram negatif. Bakteri gram positif dan gram negatif mempunyai dinding yang berbeda sensitivitasnya terhadap perlakuan enzim, fisik dan antibiotik. Kedua jenis mikroorganisme uji ini memiliki komposisi dinding sel yang berbeda. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida berupa asam teikoat yang bersifat lebih polar. Bakteri gram negatif memiliki komponen dasar penyusun dinding sel berupa lipid yang bersifat nonpolar (Silvia, dkk., 2015). Hal ini menyebabkan bakteri *E. coli* lebih sensitif terhadap fraksi-fraksi dari ekstrak n-heksan yang umumnya mengandung senyawa nonpolar.

Fraksi B memiliki aktifitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi D dan F, kecuali terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 1000 ppm. Hal ini dikarenakan Fraksi B memiliki lebih banyak senyawa flavonoid jika dibandingkan dengan fraksi D dan F. Beberapa senyawa flavonoid telah terbukti aktif terhadap bakteri contohnya, senyawa likoflavon C and derron yang aktif terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginodsa* dengan nilai MIC 7,81-15,62 µg/mL (Edziri dkk., 2012). Senyawa flavonoid aktif terhadap bakteri karena dapat menghambat kinerja enzim DNA girase sehingga replikasi DNA bakteri terhambat (Ohemeng dkk., 1993). Pada konsentrasi 1000 ppm fraksi D memiliki daya hambat yang lebih tinggi dari pada fraksi B terhadap bakteri *S. aureus*, Hal ini

dikarenakan fraksi D lebih polar dibandingkan dengan fraksi B sehingga fraksi D lebih aktif terhadap bakteri *S. aureus*.

Kesimpulan

Fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi 1000 ppm. Zona hambat terbesar terhadap bakteri *S. aureus* dimiliki oleh fraksi D yaitu sebesar 9 mm dan terhadap bakteri *E. coli* dimiliki oleh fraksi B dengan zona hambat sebesar 10 mm.

Saran

Fraksi yang tidak aktif terhadap *A. salina* dari ekstrak n-heksan kayu batang *M. umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Visenia* masih perlu diuji bioaktivitasnya lebih lanjut, karena di dalamnya terdapat beberapa golongan senyawa yang berpotensi memiliki bioaktivitas selain antibakteri

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J.E., Goetz, C.M., and McLaughlin, J.L., 1991, A Blind Comparison of Simple Benzch-top Bioassays and Human Tumor Cell, Cytotoxicities Studies as Antitumor Prescreens, *Phytochemical Analysis*, **2** (3), 107-111
- Dewoto, H. R., 2007, Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka, *Majalah Kedokteran Indonesia*, **57** (7).
- Edziri, H., Mastouri, M., Mahjoub, M. A., Mighri, Z., Mahjoub, A., Verschaeve L., 2012, antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activities of Two Flavonoids from Retama raetam Flowers, *Molecules*, **17**, 7284-7293
- Meyer B.N., Ferrigny N.R., dan Putnam J.L. 1982, Brine Shrimp, A Covennient General Bioassay for ActPive Plant Constituent, *Journal of Medical Plant Research*, **45**, 31-34.
- Ohemeng, K. A., Schwender, C. F., Fu, K. P., Barrett, J. F., 1993, DNA Gyrase Inhibitory and Antibacterial Activity of Some Flavones, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **3** (2), 225-230
- Raflizar, Adimunca, C., dan Tuminah, S., 2006, Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) Sebagai Obat Radang Hati Akut, *Cermin Dunia Kedokteran*, **50**, 10-14.
- Silvia, Arreneuz, S., Wibowo, M. A., 2015, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Soma (*Ploiarium alternifolium* Melch) Terhadap Jamur *Alassezia furfur* dan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Kimia Katulistiwa*, **4** (3), 84-93.
- Tayeb, R., Rahim, A., Alam, G., Wahyuono, S., dan Hartati, M.S. 2007, Fraksinasi Senyawa Antikanker Daun Paliasa (*Melochia umbellata* (Houtt) Staff Var. Degrabrata), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **11**, 61-71.
- Usman, Soekamto, N.H., Usman H., Ahmad A., 2015, Senyawa Turunan Oleanan dari Kulit Batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var.

Degrabrata K dan Bioaktivitasnya, *Indonesian Journal Chemistry Research*, **2**, 110-115

Ventola, C. L., 2015, The Antibiotic Resistance Crisis, *Pharmacy and Therapeutics*, **40** (4), 277–283.

Wullur S., Soekamto, N.H., Zenta F., Natsir H., 2015, Study Of Compounds From Extract of *Melochia Umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata K.* (paliasa) Leaves That has Potential as Antibacterial, *Indonesian Chimica Acta*, **8** (1), 1-8