

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi dari Akar dan Batang Tumbuhan Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour)

Rahayu Utami^{1*}, Dwi Winarsih¹, Armon Fernando¹, Mustika Furi¹,
Haiyul Fadhli¹ dan Emma Susanti¹

Artikel Penelitian

Abstract: Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) is plant species that has been using widely as traditional medicine such as a cure for diarrhea. This study was conducted to determine the antibacterial activity of extract and fractions of its root and stem against bacteria that cause diarrhea. The sample of root and stem were macerated with ethanol and then followed by ultrasonication process for 30 minutes. Fractionation process was performed by acid-base method using three different solvents which were n-hexane, chloroform and n-butanol. The extract and fractions were tested for its antibacterial activity using agar diffusion method at tested concentrations of 30; 15; 7.5; 3.75 and 1.88%. The result showed that the ethanol extract, n-hexane, chloroform A and chloroform B fractions of the root and stem provided antibacterial activity against all tested bacteria with weak to medium activity. Whereas the n-butanol fraction did not give any activity, either to *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* as well as *Vibrio cholerae*.

Keywords: antibacterial, diarrhea, *Fibraurea tinctoria*, acid base extraction, sekunyit, ultrasonication.

Abstrak: Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) merupakan tumbuhan yang berbentuk liana yang akar dan batangnya digunakan secara tradisional sebagai obat, salah satunya digunakan sebagai obat diare. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksinya terhadap bakteri penyebab diare meliputi *Escherichia coli*, *Salmonella typhii*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae*. Sampel akar dan batang dimaserasi dengan etanol dan selanjutnya diultrasonikasi selama 30 menit. Fraksinasi dilakukan menggunakan metode asam basa dengan pelarut n-heksana, kloroform dan n-butanol. Ekstrak dan fraksi kemudian diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi agar pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88%. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi kloroform A dan fraksi kloroform B dari akar dan batang sekunyit memberikan aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji dengan kategori lemah sampai sedang, sedangkan fraksi n-butanol tidak memberikan hambatan, baik terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhii*, *Staphylococcus aureus* maupun *Vibrio cholerae*.

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
Riau, Pekanbaru 28289,
Riau, Indonesia

Korespondensi:

Rahayu Utami
rahayuutami@stifar-riau.ac.id

Kata kunci: antibakteri, diare, *Fibraurea tinctoria*, metoda asam basa, sekunyit, ultrasonikasi.

Pendahuluan

Famili Menispermaceae merupakan sekelompok tumbuhan yang telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional dan dianggap sebagai sumber penghasil alkaloid isokuinolin. Alkaloid isokuinolin dilaporkan dapat memberikan beragam aktivitas farmakologi (1), termasuk sebagai antibakteri (2). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa spesies dari Menispermaceae memiliki aktivitas sebagai antibakteri, diantaranya seperti *Arcangelisia flava*, *Coscinium fenestratum* dan *Tinospora cordifolia*. Ekstrak air *Arcangelisia flava* pada konsentrasi 2% mampu memberikan zona hambat sebesar 19,35 dan 16,98 mm berturut-turut terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (3).

Spesies yang lain adalah *Coscinium fenestratum*, ekstrak etanol dari batang tumbuhan ini pada konsentrasi 10% menunjukkan zona hambat sebesar 15 mm terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan nilai KHM dan KBM 0,0049%, sedangkan terhadap *Staphylococcus epidermidis* memberikan zona hambat 16 mm dengan nilai KHM 0,0049% dan KBM 0,0165% (4). Selain itu, ekstrak metanol dari batang tumbuhan *Tinospora cordifolia* pada konsentrasi 10% juga memberikan aktivitas antibakteri dengan zona hambat sebesar 17 mm untuk *Escherichia coli*, 12 mm untuk *Pseudomonas aeruginosa* dan 13 mm untuk *Bacillus subtilis* (5).

Tumbuhan *Fibraurea tinctoria* Lour yang memiliki nama daerah sekunyit juga tergolong ke dalam Menispermaceae. Secara tradisional, bagian akar sekunyit dimanfaatkan untuk mengobati sakit perut dan diare berdarah (6). Akar dan batang tumbuhan untuk obat sakit perut, disentri, diabetes, sakit kepala dan sakit mata. Selain itu, juga digunakan untuk mengobati gejala seperti malaria (7).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa tumbuhan sekunyit mengandung beberapa senyawa alkaloid yaitu palmatin, jatrorrizin dan berberin(1). Alkaloid dari batang dan akar tumbuhan sekunyit tersebut berjenis sama. Selain itu, sekunyit juga diketahui mengandung senyawa terpenoid, baik pada batang, daun maupun akarnya (8).

Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dari akar dan batang tumbuhan sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour). Penelitian ini diharapkan dapat membantu penemuan antibakteri yang baru, terutama terhadap beberapa bakteri penyebab diare yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae*.

Bahan dan Metode

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar dan batang sekunyit yang diambil di Kecamatan Batang Peranap, Indragiri Hulu, Provinsi Riau. Bakteri uji yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Vibrio cholerae*. Bahan-bahan yang digunakan adalah *n*-heksana, etanol, kloroform, *n*-butanol, etilasetat, metanol, asam asetat glasial, asam klorida 1 N, natrium karbonat 5%, kloroform amoniak, logam magnesium, asam sulfat 2 N, asam klorida pekat, norit, besi (III) klorida 1%, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, asam sulfat 10%, Nutrient Agar (Merck®), siprofloksasin, dimetil sulfoksida (Merck®), natrium klorida fisiologis dan akuades.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi, satu unit *rotary evaporator* (Buchi®), ultrasonik (Kerry®), timbangan analitik (Shimadzu®), botol, kertas saring, *aluminium foil*, spatel, corong pisah, kertas pH, plat KLT GF254, pipet kapiler, lampu UV, pinset, pipet mikro, spektrofotometer UV-Vis (Genesys®), LAF, autoklaf, inkubator, vortek, oven, kertas cakram, jarum Ose, cawan Petri, jangka sorong, kasa steril, *hot plate* (Torrey Pines®), lampu spiritus dan peralatan gelas yang umum digunakan.

Metode

Pengambilan dan identifikasi sampel

Sampel diambil dari Kecamatan Batang Peranap, Kabupaten Indragiri Hulu. Bagian yang digunakan adalah akar dan batang tumbuhannya. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA)
Jurusan Biologi Universitas Riau, Pekanbaru.

Persiapan Simplisia

Akar dan batang tumbuhan terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang melekat, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50 °C. Setelah itu dilakukan sortasi kering, dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menjadi serbuk.

Ekstraksi Simplisia

Sebanyak 700 g serbuk akar dan batang dimaserasi dengan etanol 2,5 L selama 24 jam dan diultrasonikasi selama 30 menit. Maserat etanol disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan etanol dengan prosedur yang sama sebanyak 7 kali pengulangan. Filtrat yang telah diperoleh dikumpulkan dan dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental etanol dan ditimbang.

Fraksinasi dengan Metode Asam Basa

Ekstrak etanol sebanyak 8 g, ditambah dengan 50 ml akuades, kemudian diaduk homogen. Setelah itu ditambah 50 ml *n*-heksana. Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian dikocok hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan *n*-heksana dipisahkan dari lapisan air dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Lapisan air ditambah dengan *n*-heksana kembali dengan prosedur yang sama hingga menjadi bening.

Lapisan air dari pemisahan *n*-heksana, diasamkan dengan asam klorida 1 N hingga pH 2 dan ditambah 50 ml kloroform. Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian dikocok hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan asam dan lapisan kloroform A. Lapisan kloroform A dipisahkan dari lapisan asam dan dipekatkan. Lapisan asam ditambah dengan kloroform kembali dengan prosedur yang sama hingga menjadi bening.

Lapisan asam dari pemisahan kloroform A dibasakan dengan larutan natrium karbonat 5% hingga pH 10 dan ditambahkan 50 ml kloroform, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Campuran dikocok hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan basa berair dan lapisan kloroform B. Lapisan kloroform B dipisahkan dari lapisan basa berair dan dipekatkan. Lapisan basa berair

ditambah dengan kloroform kembali dengan prosedur yang sama hingga menjadi bening.

Lapisan air dari pemisahan kloroform B ditambah dengan 50 ml *n*-butanol di dalam corong pisah. Kemudian campuran dikocok hingga terbentuk 2 lapisan, *n*-butanol dipisahkan dari lapisan air dan dipekatkan. Lapisan air diulangi dengan penambahan *n*-butanol hingga menunjukkan hasil yang negatif alkaloid pada penambahan pereaksi Mayer (9).

Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi

Uji fitokimia dilakukan meliputi uji senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, steroid dan terpenoid terhadap ekstrak dan fraksi yang telah diperoleh. Pada masing-masing ekstrak dan fraksi ditambahkan air suling dan kloroform sebanyak 5 ml (1:1) lalu dikocok kuat dan didiamkan beberapa saat hingga terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan air dan kloroform. Lapisan air digunakan untuk uji flavonoid, fenolik dan saponin. Sedangkan lapisan kloroform digunakan untuk uji steroid dan terpenoid. Uji alkaloid memiliki prosedur tersendiri.

Uji Flavonoid

Beberapa tetes lapisan air pada plat tetes ditambah 1-2 butir logam magnesium dan beberapa tetes asam klorida pekat. Hasil uji positif bila larutan berubah warna menjadi jingga, merah muda hingga merah.

Uji Fenolik

Beberapa tetes lapisan air pada plat tetes ditambah larutan besi (III) klorida 1%. Hasil uji positif bila larutan berubah warna menjadi biru atau ungu.

Uji Saponin

Lapisan air dalam tabung reaksi dikocok. Hasil uji positif mengandung saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil.

Uji Terpenoid dan Steroid

Lapisan kloroform disaring menggunakan pipet yang berisi norit. Filtrat sebanyak 2-3 tetes diteteskan pada plat tetes dan dibiarkan mengering. Setelah kering ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard (2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Hasil uji positif terpenoid apabila warna larutan berubah

menjadi merah dan positif steroid apabila warna larutan berubah menjadi hijau hingga biru.

Alkaloid

Sebanyak 0,05 g ekstrak atau fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 10 ml kloroform dan 10 ml kloroform amoniak 0,05 M diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 1 mL asam sulfat 2 N dan dikocok selama 2 menit, didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Kedua lapisan dipisahkan dan lapisan asam ditambah dengan pereaksi Mayer. Hasil uji positif untuk alkaloid jika terjadi endapan putih.

Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak dan fraksi

Ekstrak dan fraksi yang akan diuji dilarutkan dalam DMSO dengan konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88%.

Sebanyak 0,3 mL biakan bakteri dimasukkan ke dalam cawan Petri, kemudian ditambahkan media NA ± 15 mL. Setelah media padat, kertas cakram steril yang sebelumnya telah ditetesi dengan masing-masing sampel uji sebanyak 10 µl diletakkan pada permukaan media. Kontrol positif yang digunakan adalah cakram siprofloksasin 5 µg dan kontrol negatif ditetesi dengan DMSO yang digunakan untuk melarutkan sampel uji. Cawan Petri diinkubasi dengan keadaan terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, diukur zona hambat pertumbuhan bakteri menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, gambar dan diagram, kemudian dianalisa

secara statistik deskriptif. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dengan mengukur zona hambat.

Hasil dan Diskusi

Maserasi 700 g akar dan batang sekunyit dengan 2,5 L etanol selama 24 jam dan ultrasonikasi selama 30 menit dengan pengulangan sebanyak 7 kali, diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kehitaman sebanyak 21,5 g dengan rendemen 3,07%. Metode maserasi untuk mengekstraksi komponen senyawa dalam sampel dipilih karena dapat mengekstraksi senyawa yang tidak tahan terhadap panas, peralatan yang digunakan lebih sederhana dan proses pengerjaannya mudah. Namun, maserasi merupakan metode yang tidak efisien dari segi waktu ekstraksi. Sehingga dalam hal ini digunakan metode ultrasonikasi yang dilakukan selama 30 menit. Dimana, ekstraksi dengan ultrasonikasi selama 30 menit merupakan waktu yang optimal dalam mengekstraksi alkaloid dengan kadar yang paling tinggi dibandingkan pada waktu yang lainnya (10). Ultrasonikasi merupakan salah satu metode yang dapat meningkatkan laju perpindahan jumlah senyawa dari sel tumbuhan sehingga mempercepat waktu ekstraksi. Tanpa adanya faktor yang dapat mempercepat perpindahan massa dalam suhu ruang, maka waktu kontak antara sampel dengan pelarut harus dalam waktu yang cukup lama. Selain itu, salah satu sifat dari ultrasonikasi adalah non destruktif dan non invasif sehingga mudah diadaptasikan dalam berbagai aplikasi (11).

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Akar dan Batang Tumbuhan Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour)

No.	Kandungan Kimia	Pereaksi	Ekstrak EtOH	Fraksi			
				n-heksana	CHCl ₃ A	CHCl ₃ B	BuOH
1	Alkaloid	Mayer	+	-	+	+	+
2	Flavonoid	Mg/HCl	-	-	-	-	-
3	Terpenoid	LB	+	+	+	-	-
4	Steroid	LB	-	-	-	-	-
5	Fenolik	FeCl ₃	-	-	-	-	-
6	Saponin	Air	-	-	-	-	-

Keterangan : LB = Liebermann-Burchard; + = Bereaksi; - = Tidak Bereaksi

Fraksinasi 8 g ekstrak etanol akar dan batang sekunyit dengan metode asam basa menghasilkan 4 fraksi, yaitu fraksi *n*-heksana berwarna hijau kecoklatan sebanyak 0,45 g (5,63%), fraksi kloroform A kuning kecoklatan sebanyak 3,11 g (38,88%), fraksi kloroform B berwarna merah kecoklatan sebanyak 0,44 g (5,5%) dan fraksi *n*-butanol berwarna merah kecoklatan sebanyak 1,5 g (18,75%). Pelarut *n*-heksana digunakan dalam proses fraksinasi akan melarutkan senyawa-senyawa non polar seperti lemak/lilin, terpenoid dan steroid, sehingga memudahkan proses fraksinasi dengan pelarut selanjutnya. Adanya penambahan asam dalam fraksinasi bertujuan untuk mendapatkan alkaloid berbentuk garam sehingga lebih mudah larut dalam pelarut organik, dalam hal ini adalah kloroform. Kloroform tersebut dapat melarutkan senyawa alkaloid golongan primer, sekunder dan tersier (fraksi kloroform A). Fraksinasi lapisan air dengan penambahan basa bertujuan untuk mendapatkan alkaloid kuarterner bebas yang nantinya terlarut di dalam kloroform yang digunakan (fraksi kloroform B). *n*-Butanol merupakan pelarut polar yang digunakan dalam fraksinasi yang akan melarutkan senyawa-senyawa polar. Berdasarkan persen rendemen yang diperoleh diketahui bahwa fraksi kloroform A memberikan rendemen terbesar dengan kandungan senyawa golongan terpenoid dan alkaloid dari hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan. Senyawa golongan terpenoid dan alkaloid juga terdeteksi dalam ekstrak etanolnya. Fraksi kloroform B dan *n*-butanol hanya mengandung alkaloid (**Tabel 1**).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan cakram dan media Nutrient Agar. Ekstrak dan fraksi tersebut diujikan ke bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae*. Ke empat bakteri tersebut dipilih karena merupakan beberapa bakteri penyebab diare (12), dimana diketahui secara tradisional akar dan batang tumbuhan ini juga digunakan untuk mengobati sakit perut, diare dan disentri (6).

Ekstrak dan fraksi yang diuji dibuat dalam konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88%. Pemilihan konsentrasi tersebut didasarkan pada pertimbangan penggunaan konsentrasi 2% pada

ekstrak air tumbuhan *Archangelisia flava* yang termasuk salah satu famili Menispermaceae. Ekstrak air tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (3), sehingga dipilih konsentrasi terkecil yang mendekati 2%. Kemudian konsentrasi selanjutnya digunakan kelipatannya dengan tujuan untuk mempermudah pembuatan seri konsentrasi.

Sebagai pembanding digunakan kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol negatif adalah cakram yang hanya mengandung pelarut. DMSO yang digunakan untuk melarutkan sampel uji. Penggunaan kontrol negatif bertujuan untuk memastikan bahwa zona hambat yang dihasilkan bukan berasal dari pelarut yang digunakan, tetapi benar-benar berasal dari ekstrak dan fraksi uji. DMSO dipilih karena memiliki sifat dapat melarutkan senyawa polar dan non polar (13), sehingga diharapkan dapat melarutkan semua komponen senyawa yang terkandung di dalam ekstrak dan fraksi uji, sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 5 µg/disk. Penggunaan kontrol positif bertujuan untuk membuktikan bahwa pengujian yang dilakukan sudah tepat dan menghasilkan perubahan yang ditandai dengan terbentuknya zona bening. Siprofloksasin digunakan karena merupakan antibiotik yang berspektrum luas, meliputi bakteri Gram positif dan Gram negatif. Selain itu, siprofloksasin masih digunakan sebagai antibiotik pilihan utama dan alternatif terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* (14).

Dari pengujian menunjukkan bahwa DMSO sebagai pelarut yang melarutkan ekstrak dan fraksi tidak menunjukkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Sehingga zona hambat yang dihasilkan pada setiap konsentrasi benar-benar berasal dari sampel uji. Sedangkan zona hambat yang dihasilkan oleh siprofloksasin sebagai kontrol positif rata-rata memberikan zona hambat kategori kuat baik terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* maupun *Vibrio cholerae*.

Uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan pada ekstrak dan fraksi dari akar dan batang tumbuhan sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) dengan beberapa konsentrasi memberikan aktivitas antibakteri yang berbeda-beda terhadap

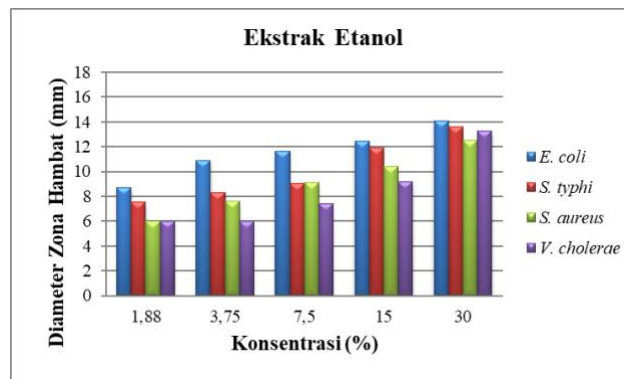
bakteri uji yang digunakan. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar cakram. Zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang atau sama dengan 14 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, apabila zona hambat berukuran 15-19 mm dikategorikan sedang dan sama dengan 20 mm atau lebih dikategorikan kuat (15).

Hasil pengukuran zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol memberikan aktivitas kategori lemah pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, konsentrasi 30; 15; 7,5 dan 3,75% terhadap *Staphylococcus aureus* dan konsentrasi 30; 15 dan 7,5% terhadap *Vibrio cholerae*. Ekstrak etanol dengan konsentrasi uji paling rendah 1,88% tidak

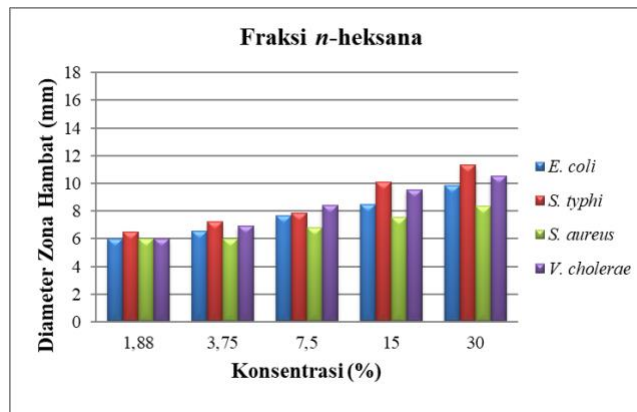
menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*; konsentrasi 3,75 dan 1,88% terhadap *Vibrio cholerae* (**Gambar 1**).

Fraksi *n*-heksana menunjukkan aktivitas antibakteri kategori lemah pada semua konsentrasi uji terhadap *Salmonella typhi*, konsentrasi 30; 15; 7,5 dan 3,75% terhadap *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*, konsentrasi 30; 15 dan 7,5% terhadap *Staphylococcus aureus* (**Gambar 2**).

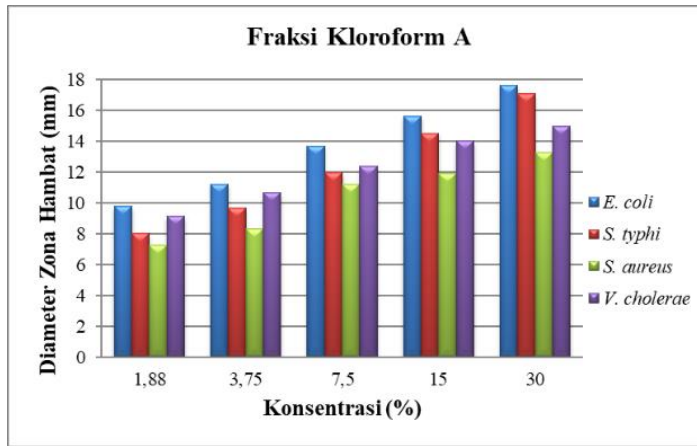
Fraksi kloroform A menunjukkan aktivitas antibakteri kategori sedang pada konsentrasi 30 dan 15% terhadap *Escherichia coli*; konsentrasi 30% terhadap *Salmonella typhi*, sedangkan kategori lemah pada konsentrasi 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Escherichia coli*, konsentrasi 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Salmonella typhi*, konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* (**Gambar 3**).



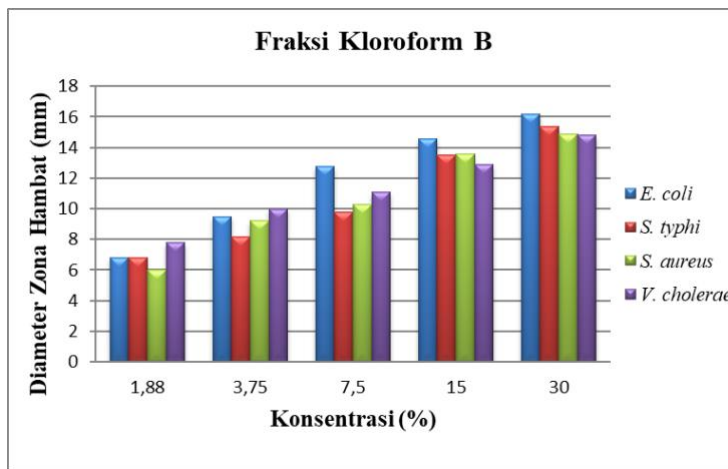
Gambar 1. Diagram Hubungan antara Konsentrasi Uji Ekstrak Etanol terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Uji



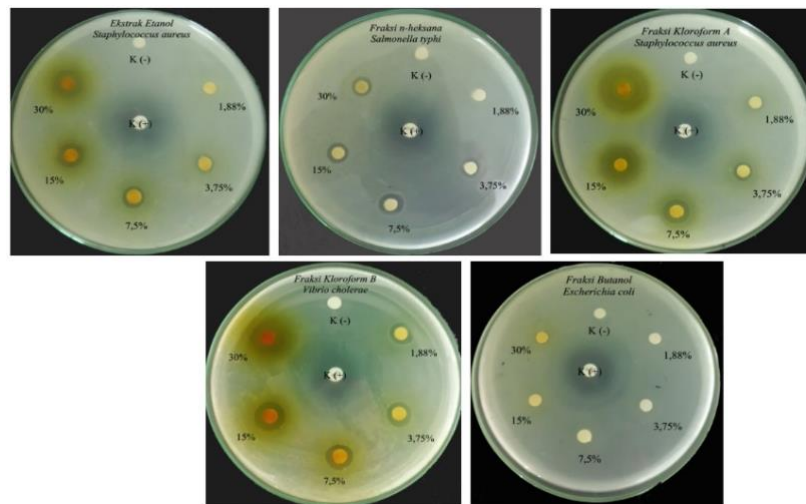
Gambar 2. Diagram Hubungan antara Konsentrasi Uji Fraksi *n*-Heksana terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Uji



Gambar 3. Diagram Hubungan antara Konsentrasi Uji Fraksi Kloroform A terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Uji



Gambar 4. Diagram Hubungan antara Konsentrasi Uji Fraksi *n*-Butanol terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Uji



Gambar 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi terhadap Bakteri Uji

Fraksi kloroform B menunjukkan aktivitas antibakteri kategori sedang pada konsentrasi 30%, kategori lemah pada konsentrasi 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Kategori lemah pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Vibrio cholerae*, konsentrasi 30; 15; 7,5 dan 3,75 terhadap *Staphylococcus aureus*. Sedangkan konsentrasi 1,88% terhadap *Staphylococcus aureus* tidak menunjukkan aktivitas antibakteri (**Gambar 4**). Uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-butanol pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% tidak menunjukkan aktivitas antibakteri baik terhadap semua bakteri uji (**Gambar 5**).

Daya hambat yang dihasilkan dari ekstrak dan fraksi terhadap ke empat bakteri semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi, dikarenakan konsentrasi dapat mempengaruhi kecepatan difusi senyawa aktif. Makin besar konsentrasi ekstrak dan fraksi uji, maka makin besar pula kecepatan difusi zat aktif. Akibatnya, makin besar aktivitas antibakteri dan makin luas diameter zona hambat yang terbentuk.

Fraksi kloroform A menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling besar dibandingkan ekstrak etanol, fraksi kloroform B dan fraksi *n*-heksana. Adanya kandungan alkaloid dan terpenoid, diharapkan aktivitas antibakteri yang dihasilkan akan lebih besar. Namun, dari hasil pengujian antara fraksi kloroform A dan ekstrak etanol memberikan hasil yang berbeda. Hal ini diduga karena kandungan senyawa pada ekstrak etanol yang masih kompleks, yaitu adanya pengaruh dari senyawa-senyawa lain yang tidak bersifat sebagai antibakteri sehingga terjadi penurunan aktivitas antibakteri. Lain halnya dengan fraksi kloroform A, adanya proses fraksinasi menyebabkan kandungan senyawa pada fraksi kloroform A lebih sederhana, sehingga memberikan aktivitas antibakteri yang lebih besar. Campuran senyawa aktif pada tumbuhan dapat memberikan efek yang berbeda-beda, baik itu efek sinergis, antagonis ataupun netral.

Alkaloid diketahui memiliki mekanisme antibakteri dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut (16). Namun untuk dapat merusak

penyusun peptidoglikan tersebut, senyawa alkaloid harus mampu menembus membran luar bakteri. Mekanisme tersebut dapat dilakukan oleh senyawa terpenoid. Karena diketahui bahwa terpenoid bersifat non polar/larut lemak yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak membran sel. Terpenoid akan bereaksi dengan sisi aktif membran, melarutkan komponen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya (17). Setelah membran luar bakteri rusak oleh terpenoid, maka senyawa alkaloid akan lebih mudah masuk ke dalam sel dan merusak komponen peptidoglikan. Hal tersebut menyebabkan fraksi kloroform A memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar diantara ekstrak dan fraksi yang lainnya.

Selain itu, alkaloid juga memiliki kemampuan dalam menginterkalasi DNA bakteri, yaitu dengan cara mengikat basa nitrogen diantara susunan asam amino sehingga menyebabkan bakteri menjadi lisis dan juga dapat menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (18). Adanya mekanisme tersebut, diduga senyawa alkaloid pada fraksi kloroform B mampu memberikan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri.

Pada pengujian, fraksi *n*-heksana lebih efektif terhadap bakteri Gram negatif, terutama *Salmonella typhi* dibandingkan terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan Gram positif. Hal ini diduga karena kandungan porin pada membran luar dinding sel bakteri Gram negatif yang berfungsi sebagai keluar masuknya senyawa aktif. Senyawa terpenoid diketahui dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan terjadinya kerusakan pada porin. Rusaknya porin tersebut akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (19).

Fraksi *n*-butanol tidak menunjukkan aktivitas antibakteri, hal tersebut diduga karena jumlah kandungan senyawa alkaloid yang banyak terdapat di dalamnya yang menyebabkan terjadinya ikatan antarmolekul, sehingga terbentuk molekul yang lebih besar. Molekul yang lebih besar tersebut tidak mampu menembus pori-pori media agar dan menyebabkan tidak

terjadinya kontak langsung antara senyawa aktif dengan bakteri, sehingga tidak terjadi kerusakan pada sel bakteri. Selain itu, diperkirakan alkaloid pada fraksi *n*-butanol bersifat sangat polar. Diduga karena tingginya kepolaran senyawa alkaloid pada fraksi *n*-butanol menyebabkan senyawa tersebut tidak mampu untuk menembus dinding sel bakteri Gram negatif yang terdiri dari peptidoglikan 10%, lipopolisakarida dan kandungan lipid tinggi 11-22%. Kandungan lipid yang tinggi menyebabkan senyawa yang sangat polar tidak mampu menembus dinding sel bakteri. Selain itu, bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif diketahui dapat mengeluarkan suatu senyawa yaitu beta laktamase yang sifatnya merusak aktivitas antibakteri (14), sehingga diduga alkaloid yang terkandung di dalam fraksi *n*-butanol mengalami penurunan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Kesimpulan

Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform A dan fraksi kloroform B dari akar dan batang tumbuhan sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab diare dengan kategori lemah sampai sedang. Namun, fraksi *n*-butanol tidak memberikan hambatan terhadap semua bakteri uji, baik bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* maupun *Vibrio cholerae*.

Referensi

1. Keawpradub N, Dej-adisai S, and Yuenyongsawad. Antioxidant and Cytotoxic Activities of Thai Medicinal Plants Named Khaminkhruea: *Arcangelisia flava*, *Coscinium blumeinum* and *Fibraurea tinctoria*. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2005; 27, 455-467.
2. Cushine TPT, Cushine B, and Lamb AJ. Alkaloids : An Overview of Their Antibacterial, Antibiotic-enhancing and Antivirulence Activities, *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2014; 44, 377-386.
3. Heryani H, and Nugroho A. Study of Yellow Root (*Arcangelisia flava* Miers) as A Natural Food Additive with Antimicrobial and Acidity-stabilizing Effects in the Production

Process of Palm Sugar, *Procedia Enviromental Sciences.* 2015;23, 346-350.

4. Kumar GS, Jayaveera KN, Kumar, CKA, Sanjay UP, Swamy BMV, and Kumar DVK. Antimicrobial Effects of Indian Medicinal Plants againts Acne-inducing Bacteria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2007;6(2),717-723.
5. Goveas SW, and Abraham A. Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activity of Steam and Leaf Extracts of *Coscinium fenestratum*. *Asian J Pharm Clin Res.* 2013; 6, 218-221.
6. Mohamad S. 2010. The Ethnobotany of The Semelai Community at Tasek Bera, Pahang, Malaysia : An Ethnographic Approach for Re-Settlement, *Tesis*, School of Architecture, Landscape Architecture and Urban Design, The University of Adelaide, Australia.
7. Nguyen-Pouplin J, Tran H, Phan TA, Dolecek C, Farrar J, Tran TH, Caron P, Bodo B, and Grellier P. Antimalarial and Cytotoxic Activities of Ethnopharmacologically Selected Medicinal Plants from South Vietnam, *Journal of Ethnopharmacology.* 2007;109, 417-427.
8. Wahyuningsih MSH, Wahyuono S, Santosa D, Setiadi J, Soekotjo, Widiastuti SM, Rakhmawati R, dan Wahyuni DSC. Eksplorasi Tumbuhan dari Hutan Kalimantan Tengah sebagai Sumber Senyawa Bioaktif. *Biodiversitas.* 9(3)(2008), 169-172.
9. Sarker SD, Latif Z, and Gray AI. 2006. Natural Products Isolation. Totowa, New Jersey : Humana Press.
10. Zhang F, Chen B, Xiao S, and Yao S. Optimization and Comparison of Different Etraction Techniques for Sanguinarine and Chelerythrine in Fruits of *Macleaya cordata* (Wild), R. Br. *Separation and Purification Technology.* 2005; 42, 283-290.
11. McClements DJ. Advances in The Application of Ultrasound in Food Analysis and Processing. *Trends Food Sci. Techn.* 1995;6, 293-329.
12. McPhee SJ, dan Ganong WF. 2010. Patofisiologi Penyakit : Pengantar Menuju

- Kedokteran Klinis, terjemahan Brahm U. Pendit, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
13. Anonim. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Health and Safety Information, Gaylord Chemical Company. *L. L. C. Bulletin*. 2007;106, 1-16.
 14. Jawetz E, Joseph M, dan Edward A. 2012. Mikrobiologi Kedokteran, Edisi 25, terjemahan Aryandhito Widhi Nugroho, Dian Ramadhani, Hunardja Santasa, Nella Ye`sdelita dan Windriya Kerta Nirmala, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
 15. Anonymous. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Eleventh Edition, CLSI, USA.
 16. Juliantina FR, Citra DA, Nirwani B, Nurmasitoh T, dan Bowo ET. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif, *JKKI-Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2009;1(1).
 17. Nazzaro F, Fratianni F, Martino LD, Coppola R, and Feo VD. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria, *Pharmaceuticals*. 2013; 6, 1451-1474.
 18. Karou D, Savadogo A, Canini A, Yameogo S, Montesano C, Simpore J, Colizzi V, and Traore AS. Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 2005;4, 1452-1457.
 19. Sunatmo TI. 2009. Mikrobiologi Esensial. Mikrobiologi IPB. Bogor.