

UJI AKTIVITAS SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK DAUN SAMBANG COLOK (*Aerva sanguinolenta* (L.) Bl.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* SECARA BIOAUTOGRAFI

Guntur Yusuf

Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun Sambang Colok untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan mengidentifikasi kandungan senyawa yang terindikasi menghambat bakteri tersebut. Metode yang digunakan adalah Bioautografi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Uji Daya Hambat menggunakan Metode Difusi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak N-Butanol daun Sambang Colok ditemukan lima bercak noda dengan warna dan nilai Rf yang berbeda-beda. Bercak noda dengan nilai Rf 0,90 berwarna merah, bercak noda dengan Rf 0,72 berwarna merah muda, bercak noda dengan nilai Rf 0,52 berwarna abu-abu tua, bercak noda dengan nilai Rf 0,36 berwarna hijau muda, bercak noda dengan nilai Rf 0,18 berwarna abu-abu.. Pada ekstrak eter daun Sambang Colok (*Aerva sanguinolenta* (L) Bl) didapatkan 7 bercak noda, masing-masing : bercak noda dengan nilai Rf 0,96 berwarna kuning, bercak noda dengan nilai Rf 0,90 berwarna abu-abu, bercak noda dengan nilai Rf 0,81 berwarna merah muda, bercak noda dengan nilai Rf 0,67 berwarna Hijau kekuningan, bercak noda dengan nilai Rf 0,52 berwarna Hijau, bercak noda dengan nilai Rf 0,36 berwarna kuning, bercak noda dengan nilai Rf 0,27 berwarna hijau. Hasil Uji aktivitas antibakteri senyawa bioaktif menunjukkan bahwa ekstrak eter Daun sambang colok (*Aerva sanguinolenta* (L) yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu pada bercak dengan nilai Rf 0,81 (noda berwarna merah muda) dan bercak dengan nilai Rf 0,36 (noda berwarna kuning). Sedangkan ekstrak N-butanol Daun sambang colok (*Aerva sanguinolenta* (L) yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu pada bercak dengan nilai Rf 0,72 (noda berwarna merah muda). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bercak yang menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* terindikasi adalah senyawa polifenol dan saponin.

Kata Kunci : Uji aktivitas senyawa bioaktif, ekstrak daun sambang, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Sambang Colok adalah salah satu tumbuhan khas Indonesia yang dapat dijumpai dimana-mana. Tumbuhan ini banyak ditanam dan dipelihara oleh masyarakat sebagai tanaman hias dipekarangan, karena warnanya yang indah yakni berwarna merah muda. Selain itu banyak pula masyarakat yang menanam dan memelihara tumbuhan Sambang Colok ini sebagai tanaman obat, karena secara tradisional turun temurun telah digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit, antara lain sebagai obat diare, obat gatal-gatal, obat demam, dan sebagainya.

Pemanfaatan daun Sambang Colok sebagai obat gatal pada kulit telah digunakan oleh masyarakat di berbagai tempat di Indonesia. Kemampuan daun Sambang Colok menyembuhkan gatal-gatal pada kulit mengindikasikan bahwa tanaman tersebut mengandung bahan aktif yang dapat berpengaruh terhadap mikroorganisme penyebab gatal-gatal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan fakta-fakta ilmiah tentang kandungan bahan aktif pada daun Sambang Colok dan pengaruhnya terhadap mikroorganisme

penyebab gatal-gatal pada kulit, dalam hal ini bakteri *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya fakta-fakta ilmiah yang diperoleh dapat dikembangkan untuk menjelaskan lebih jauh tentang kemampuan daun Sambang Colok untuk menyembuhkan beberapa penyakit, terutama penyakit gatal-gatal pada kulit.

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah senyawa apa saja yang dapat teridentifikasi dari ekstrak daun Sambang Colok dan diantara senyawa yang teridentifikasi pada ekstrak daun Sambang Colok, senyawa apa yang potensial menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Adapun tujuan dari penelitian yaitu untuk mengetahui senyawa apa saja yang teridentifikasi sebagai potensial bahan aktif yang terdapat pada ekstrak daun Sambang Colok dan untuk menentukan senyawa atau bahan aktif yang terdapat dalam ekstrak daun Sambang Colok yang potensial menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai Oktober 2016 di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar.

B. Alat dan Bahan yang digunakan

- a. Alat yang digunakan
Autoklaf, batang pengaduk, bunsen, chamber, cawan petri, corong kaca, Erlenmeyer, gegep, gelas kimia, gunting, lab halus, lampu UV, lemari es, masker, mistar, oven, pipet volum, pipet tetes, rotapapor, timbangan analitik, toples, thermometer, vial, waterbath.
- b. Bahan yang digunakan
Aquadest, alumunium foil, biakan *Staphylococcus aureus*, ekstrak tanaman Sambang Colok, kertas saring, kertas karkil, label, kloroform, methanol, medium Nutrien Agar (NA), dan NaCl 0,9%.

C. Prosedur kerja

Penyiapan Bahan Uji

Bahan Uji yang digunakan adalah sampel Daun Sambang Colok yang diambil dari kota Makassar. Daun Sambang Colok yang digunakan adalah daun segar dan di petik pada pagi hari sekitar jam 07.00-10.00. Bahan tersebut dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung. Daun Sambang Colok yang telah dikeringkan kemudian, masing-masing ditimbang 500 gram dan diekstraksi dengan metode maserasi. Yaitu dengan merendam sampel dengan etanol 70% hingga seluruh sampel terendam, kemudian tutup dan simpan selama 5 hari sambil sesekali diaduk selanjutnya disaring. Ampasnya dimasukan kembali ke dalam alat maserasi dan dilakukan seperti semula sampai cairan penyari tak berwarna. Hasil ekstraksi dipekatkan dengan rotavapor kemudian diuapkan di atas penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian diuapkan sampai dihasilkan ekstrak kering.

Pembuatan ekstrak eter Daun Sambang Colok

Ekstrak etanol dipartisi dengan cara ekstraksi cair-cair. Pertama-tama ekstrak etanol dilarutkan dengan air sebanyak 50 ml kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut eter sebanyak 50 ml kemudian digojog, lalu didiamkan hingga lapisan air dan eter terpisah. Kedua lapisan pelarut dipisahkan sehingga diperoleh ekstrak larut eter dan ekstrak larut air. Ekstrak larut eter diuapkan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak kering.

Pembuatan ekstrak N-butanol Daun Sambang Colok

Diambil lapisan air dari ekstrak eter. Dimasukkan kembali ke corong pisah dan ditambah pelarut n-butanol yang telah dijenuhkan dengan air kemudian digojog, lalu didiamkan hingga lapisan air dan n-butanol terpisah. Kedua lapisan pelarut dipisahkan sehingga diperoleh ekstrak larut n-butanol dan ekstrak larut air. Ekstrak larut n-butanol dan ekstrak larut air diuapkan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak kering.

Pembuatan Medium Nutrien Agar (NA)

Bahan ditimbang sebanyak 2,5 gram lalu dilarutkan dalam air suling hingga 100 ml kemudian dipanaskan diatas penangas air agar larut sempurna. Lalu diukur pHnya hingga 7,2, kemudian disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Dirjen POM RI, 1995).

Penyiapan Bakteri

Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*. Dari stok murni diambil 1 ose dan diinokulasi dengan cara digoreskan secara steril ke dalam medium NA miring, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

Bakteri uji hasil peremajaan yang telah diinkubasi dibuat suspensi bakteri dengan larutan NaCl 0,9 % dan diukur transmittannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm dengan transmittan 25%. Sebagai blanko digunakan larutan NaCl 0,9% steril.

Kromatografi Lapis Tipis

Pembuatan Eluen

Dibuat campuran eluen dengan menggunakan Kloroform : metanol : air (10:6:1) untuk eluen polar dan heksan : etil asetat (7:3) untuk eluen nonpolar dibuat sebanyak 25 ml dengan cara diukur dengan saksama Kloroform 14,7 ml, metanol 8,8 ml dan air 1,4 ml kemudian heksan diukur sebanyak 17,5 ml dan etil asetat 7,5 ml. Dimasukkan ke dalam botol eluen, dikocok hingga homogen. Larutan eluen siap untuk digunakan.

Penjenuhan Chamber

Chamber yang akan digunakan terlebih dahulu dijenuhkan dengan cara masing-masing campuran eluen dimasukkan ke dalam chamber yang telah dibersihkan dan dibilas dengan alkohol 70% kemudian dimasukkan kertas saring ke dalam chamber sambil sedikit bagian ujungnya dibiarkan di luar chamber. Jenuhnya chamber ditandai dengan cairan eluen telah melewati bagian kertas saring yang berada di dalam chamber.

Penotolan Bahan Uji

Dipilih salah satu ekstrak daun Sambang Colok yang telah dilarutkan, ditotolkan pada garis penotolan dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian lempeng yang telah ditotolkan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dan dibiarkan hingga proses elusi selesai.

Pengamatan Noda

Setelah proses elusi selesai, lempeng KLT dikeluarkan dari chamber dan dibiarkan hingga kering, kemudian diamati bercak noda di bawah lampu UV. Jika noda belum tampak maka lempeng disemprot dengan H_2SO_4 10%, dibiarkan beberapa saat hingga kering kemudian dipanaskan di atas pemanas listrik hingga diperoleh noda yang stabil. Lalu di hitung nilai Rf.

Identifikasi Komponen Kimia

Ekstrak yang telah diperoleh diencerkan kemudian ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan cairan pengembang Kloroform : metanol : air (10:6:1) untuk eluen polar dan heksan : etil asetat (7:3) untuk eluen nonpolar kemudian diamati warna bercak noda yang

muncul yang menunjukkan komponen kimia yang terkandung dalam ekstrak. Warna biru menunjukkan flavonoid, warna kuning menunjukkan saponin dan merah menunjukkan adanya polifenol. Bercak dideteksi dengan pereaksi siroborat untuk deteksi flavanoid, reagen Liebermann-Burchard untuk deteksi saponin dan $FeCl_3$ untuk deteksi fenolik.

Pengujian KLT Bioautografi

Jenis KLT Bioautografi yang digunakan adalah Bioautografi kontak yaitu Medium NA sebanyak 15 ml yang telah dicampur dengan 0,2 ml suspensi bakteri dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Setelah media memadat, lempeng KLT yang telah dielusi di letakkan di atas permukaan media agar. Setelah 30 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan, kemudian medium yang telah ditempati lempeng KLT diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, diamati zona hambatan yang terbentuk pada media.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian Uji Aktivitas Senyawa Bioaktif Dari Ekstrak Daun Sambang Colok (*Aerva sanguinolenta* (L.) Bl.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara Bioautografi diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 1 :Hasil pengujian Senyawa Bioaktif Dari Ekstrak Eter Daun Sambang Colok (*A. sanguinolenta* (L.) Bl.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara Bioautografi dengan menggunakan eluen heksan : etil asetat (7:3)

No.Urut Noda	Warna Noda	Nilai Rf (cm)	Hasil Uji Aktivitas Dengan Metode Bioautografi (mm)
1.	Kuning	0,96	-
2.	Abu-abu	0,90	-
3.	Merah muda	0,81	5,15 mm
4.	Hijau kekuningan	0,67	-
5.	Hijau	0,52	-
6.	Kuning	0,36	5,25
7.	Hijau	0,27	-

Tabel 2 : Hasil pengujian Senyawa Bioaktif Dari Ekstrak N-Butanol Daun Sambang Colok (*A.sanguinolenta* (L.) Bl.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara Bioautografi dengan menggunakan eluen Kloroform : metanol : air (10:6:1)

No.Urut Noda	Warna Noda	Nilai Rf	Hasil Uji Aktivitas Dengan Metode Bioautografi (mm)
1.	Merah muda	0,90	-
2.	Merah muda	0,72	8,25
3.	Abu-abu	0,52	-
4.	Hijau Muda	0,36	-
5.	Abu-abu	0,18	-

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pengujian senyawa bioaktif terhadap ekstrak n-Butanol daun Sambang Colok teridentifikasi lima bercak noda dengan nilai RF yang berbeda. Hasil tersebut menunjukkan bahwa didalam ekstrak n-Butanol daun Sambang Colok terdapat minimal lima macam senyawa yang teridentifikasi potensial sebagai senyawa aktif. Temuan tersebut sekaligus merupakan petunjuk bahwa ekstrak n-Butanol daun Sambang Colok memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan beberapa jenis mikroorganisme. Uji daya hambat yang dilakukan terhadap senyawa-senyawa aktif yang didapatkan, ditemukan bahwa dari lima senyawa aktif tersebut satu diantaranya dapat menghambat bakteri uji yaitu bakteri *Staphylococcus*. Berdasarkan hasil identifikasi terhadap senyawa aktif tersebut, termasuk golongan saponin. Selanjutnya pada uji senyawa bioaktif ekstrak eter daun Sambang teridentifikasi tujuh senyawa aktif dengan nilai Rf yang berbeda-beda.

Hasil tersebut memberi petunjuk bahwa pada ekstrak daun Sambang Colok dengan pelarut eter, dapat ditemukan minimal tujuh senyawa aktif yang potensial menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Temuan itu juga memberi isyarat bahwa ekstraksi yang menggunakan pelarut yang sesuai dapat mengidentifikasi lebih banyak kandungan senyawa aktif. Uji daya hambat terhadap tujuh senyawa aktif, dua diantaranya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, yang berdasarkan hasil identifikasi keduanya adalah termasuk golongan terpenoid dan saponin.

Penelitian ini memperkuat hasil-hasil penelitian sebelumnya, bahwa daun Sambang Colok potensial mengandung bahan aktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Dengan demikian maka penggunaan daun Sambang Colok sebagai bahan dasar untuk menghasilkan obat yang memiliki bioaktif dapat dikembangkan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Daun Sambang Colok mengandung berbagai bahan aktif yang dapat diekstraksi secara maksimal dengan menggunakan metode ekstraksi yang tepat.
2. Senyawa-senyawa aktif yang teridentifikasi dari ekstrak daun Sambang Colok memiliki karakteristik yang berbeda-beda, sehingga kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme juga bervariasi.
3. Senyawa aktif yang telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri

Staphylococcus aureus adalah senyawa "terpenoid" dan "saponin".

DAFTAR PUSTAKA

- Akhyar, 2010, *Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*, Farmasi UI Press, Depok
- Dalimartha, S., 2012, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 6*, Pustaka Bunda.
- Depkes RI. 2007. *Kebijakan Obat Tradisional Nasional*. Jakarta: Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian Dan Alat Kesehatan
- Hariana, A. 2013. *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*, Penebar Swadaya Cibubur, Jakarta Timur
- Pratiwi. S, 2010, *Mikrobiologi Farmasi*, PT Erlangga, Jakarta.
- Sastroshamidjojo, 2007, *Kromatografi*. Penerbit Liberty, Yogyakarta
- Soraya, I, A. 2012, *Efek ekstrak etanol Sambang Colok (*Hedyotis corymbosa*) terhadap kadar kalsium serum darah terhadap tikus jantan*. Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. Depok.
- Waluyo L., 2008. *Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*. Universitas Muhamadiyah Malang. Malang.
- Warsa, U, C. 2014. *Buku ajar mikrobiologi kedokteran*, Edisi Revisi. UI Press, Jakarta.