



dapat diakses melalui <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>



Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Dari Daun KAF (*Chisocheton sp. (C. DC) HARMS*)

Florentin N. Melsadalam^{a*}, Dewa G, Katja^a, Meiske S. Sangja^a

^aJurusan Kimia, FMIPA, Unsrat, Manado

KATA KUNCI

Daun Kaf, Fitokimia, Antibakteri

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun kaf menggunakan tiga jenis pelarut yakni *n*-heksan, etil asetat, dan metanol. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya dengan metode difusi yang menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dari hasil pengujian fitokimia, ketiga ekstrak tersebut menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa; alkaloid, saponin, steroid, flavonoid dan tanin. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi menunjukkan hasil yang paling tinggi aktivitas antibakteri adalah ekstrak etil asetat dengan zona hambat 35,75 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada ekstrak metanol memiliki zona hambat 23,75 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*.

KEYWORDS

Leave kaf, phytochemical, antibacterials

ABSTRACT

Research has been carried out aimed at identifying secondary metabolites of kaf leaf extract using three types of solvents, namely *n*-hexane, ethyl acetate, and methanol. The obtained extracts were tested for antibacterial activity by diffusion method using *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. From the results of phytochemical testing, the three extracts showed that the sample contained compounds; alkaloids, saponins, steroids, flavonoids and tannins. Antibacterial activity testing with diffusion method showed the highest antibacterial activity was estracethyl ethyl acetate with 35.75 mm inhibition zone against *Staphylococcus aureus* bacteria, whereas methanol had 23.75 mm inhibitory zone against *Escherichia coli* bacteria.

TERSEDIA ONLINE

01 Agustus 2019

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber tanaman obat yang secara turun-temurun telah digunakan sebagai ramuan obat tradisional. Masyarakat sekarang lebih memilih untuk bahan alami walaupun perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi semakin moderen. Penggunaan obat tradisional menjadi pilihan utama karena efek samping obat tradisional yang relatif kecil jika digunakan secara tepat dan tanpa penyalahgunaan (Krisyanella, 2009).

Tumbuhan kaf merupakan salah satu famili meliaceae dengan genus *chisocheton*. Genus *Chisocheton* telah banyak dilaporkan dan menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antikanker, sitotoksik, antitumor, antiinflamasi, antimalaria, antimikroba, dan antilipid (Wong *et al.*,

2011; Mohamad *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009; Awang *et al.*, 2012; Najmuldeen *et al.*, 2012).

Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay (Harbone, 1987).

Beberapa bakteri telah mengalami resistensi dengan antibiotik tertentu, oleh karena alternative pengobatan yang berasal dari alam menjadi semakin nyata. Bakteri pathogen lebih berbahaya dan menyebabkan infeksi baik secara sporadik maupun endemik, antara lain bakteri *staphylococcus aureus* & *escherichia coli* (Djide dan Sartini, 2008).

Berdasarkan penelusuran jurnal belum ada literatur yang meneliti tumbuhan kaf, tumbuhan kaf belum di ketahui kandungan fitokimia dan aktivitas antibakteri, oleh karena itu akan dilakukan

*Corresponding author: Jurusan Fisika FMIPA UNSRAT, Jl. Kampus Unsrat, Manado, Indonesia 95115; Email address: Florentinmelsadalam@gmail.com

penelitian tentang analisis kandungan fitokimia dan aktivitas anti bakteri dari daun kaf dengan menggunakan metode difusi sumuran.

2. Material dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan gelas kimia, gelas ukur, botol vial, labu ukur, aluminium foil, spatula, corong kaca, Kertas Whatman no 42, rotary vacuum evaporator, seperangkat alat distilasi, penangas listrik, cawan porselin, oven, pisau, ayakan 65 mesh dan blender, kaca arloji, timbangan analitik, batang pengaduk, *stirer*, cawan petri, jarum ose, pinset, inkubator, *laminar air flow*, termometer, pencadangan, autoklaf, mikropipet, mistar berskala dan alat fotografi.

Bahan yang digunakan yaitu serbuk dari daun kaf (Hutan Tidore), metanol (redestilasi), n-heksan (redestilasi), etilasetat (redestilasi), akuades, bakteri uji (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922), Nutrient Agar (NA), DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) (Merck®), yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar POM Manado, tablet Ciprofloxacin 500 mg, H₂SO₄ 0,36 N, BaCl₂·2H₂O 1,175%, NaCl 0,9%.

Preparasi Sampel

Sampel daun tumbuhan kaf yang diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dikering-anginkan selama 5 hari sampai daun kering, selanjutnya di blender dan di ayak dengan ayakan 65 mesh sehingga seruk halus dan diperoleh serbuk daun kaf yang siap untuk dimaserasi sebanyak 1000g.

Kadar Air (AOAC, 1995)

Sebanyak 2 gram serbuk ditimbang secara teliti dalam cawan porselin yang telah dikeringkan dan diketahui bobotnya. Cawan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105-110°C selama tiga jam. Cawan dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Pengeringan dilanjutkan lagi dan setiap setengah jam didinginkan dan ditimbang sampai diperoleh bobot yang konstan.

Ekstraksi Daun Kaf

Sebanyak 200 gram serbuk daun kaf dimaserasi dengan pelarut metanol, n-heksan, dan etilasetat masing-masing sebanyak 2000 mL. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring Whatman no 42 dan filtrat yang diperoleh diuapkan secara vakum menggunakan penguap putar rotary vacuum evaporator untuk memperoleh ekstrak kental.

Uji Fitokimia Daun Kaf (Harborne, 1996)

Uji fitokimia pada ekstrak metanol, etilasetat dan n-heksan dari daun kaf meliputi pemeriksaan

alkaloid, steroid, triterpenoid, flavonoid, saponin dan tannin dengan langkah sebagai berikut.

Pembuatan Larutan Uji Fitokimia

Pembuatan larutan uji untuk skrining fitokimia dilakukan dengan melarutkan 500 mg ekstrak kental metanol dalam 50 mL metanol, dilakukan perlakuan yang sama pada ekstrak kental etilasetat dan ekstrak kental n-heksan.

Identifikasi Kandungan Alkaloid

Sebanyak 2 mL larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu, disaring kemudian ditambah 2 mL H₂SO₄ 2N dan dikocok hingga memberi lapisan atas dan bawah. Lapisan dibawah diambil dan dipindahkan kedalam 3 tabung reaksi, pada tabung pertama ditambahkan 1 tetes Mayer, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Pada tabung kedua ditambahkan 1 tetes pereaksi Dragendorf dan terbentuknya endapan jingga menandakan adanya alkaloid. Tabung ketiga ditambah 1 tetes pereaksi Wagner dan terbentuknya endapan coklat menandakan adanya alkaloid.

Identifikasi Kandungan Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 2 ml larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan asam asetat anhidrat 1 tetes dan asam sulfat pekat 2 tetes. Jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid. Jika terbentuk warna ungu atau jingga menandakan adanya triterpenoid.

Identifikasi Kandungan Flavonoid

Sebanyak 2 ml larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan 5 tetes etanol, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambah dengan serbuk Mg 0.2 gr dan 5 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan adanya flavonoid.

Identifikasi Kandungan Saponin

Sebanyak 2 ml larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 2 ml aquades, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu, dipanaskan selama 3 menit. Dinginkan, setelah dingin kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil selama 30 detik menunjukkan sampel mengandung saponin.

Identifikasi Kandungan Tanin

Sebanyak 2 tetes larutan uji dari masing-masing ekstrak diteteskan pada tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan FeCl₃ 10% 3 tetes. Adanya tanin ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan.

Uji Aktivitas Antibakteri

Sterilisasi Alat (Lay dan Hastowo, 1992)

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dalam oven pada suhu 170 °C selama 2 jam, jarum osedan pinset dibakar dengan pembakaran diatasapi langsung dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Sebanyak 2 tetes larutan uji dari masing-masing ekstrak diteteskan pada tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan FeCl₃ 10% 3 tetes. Adanya tanin ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Lay, 1994)

Kontrol positif dibuat dari sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg. Satu tablet Ciprofloxacin digerus, lalu ditimbang dan disetarakan dengan 500 mg. Kemudian serbuk Ciprofloxacin dilarutkan dalam larutan aquades untuk memperoleh larutan Ciprofloxacin 50 µg/50 µl.

Pembuatan Larutan Uji (Lay, 1994)

Dibuat larutan uji 100% b/v dengan cara ditimbang 0,8g ekstrak heksan, etil asetat dan metanol daun kaf, dilarutkan kembali dengan pelarut masing-masing sebanyak 1 ml kemudian dilarutkan dalam 1 ml larutan aquades.

Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (Larutan *Mc. Farland*) (Victor, 1980)

Larutan H₂SO₄ 0,36 N sebanyak 99,5 ml dicampur dengan larutan BaCl₂.2H₂O 1,175% sebanyak 0,5 ml dalam erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji (Lay, 1994)

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaClO₉ hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland*. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

Pembuatan Media Pengujian (Lay, 1994)

Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan masing-masing 50 ml NA dari media dasar ke dalam 3 cawan petri, lalu dibiarkan sampai memadat. Setelah memadat, pada permukaan lapisan dasar diletakkan 5 pencadang baja yang diatur sedemikian rupa jaraknya agar daerah pengamatan tidak saling bertumpuh. Kemudian, suspensi bakteri dicampurkan ke dalam media pembenihan NA. Setelah itu, dituangkan 50 ml campuran suspensi dan media pembenihan tersebut ke dalam tiap cawan petri yang diletakkan pencadang sebagai lapisan kedua. Selanjutnya, pencadang diangkat secara aseptik dari cawan petri, sehingga akhirnya terbentuklah sumur-sumur yang akan digunakan dalam uji antibakteri.

Uji Aktifitas Antibakteri secara *In-vitro* (Lay, 1994)

Uji Aktivitas Antibakteri secara *In-vitro* menggunakan metode Mpila *et al.* (2012), yang telah dimodifikasi. Larutan uji ekstrak N-Heksan, etil

asetat dan metanol daun chisocheton dengan konsentrasi (100%); larutan akuades 1% sebagai kontrol negatif; larutan Ciprofloxacin 50 µg/50 µl sebagai kontrol positif, masing-masing diteteskan pada sumur yang berbeda sebanyak 50 µl. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 1x24 jam.

Pengamatan dan Pengukuran (Lay, 1994)

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte *et al.*, 2005). Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter sumuran 7 mm. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis and Stout (1971).

3. Hasil dan Pembahasan

Kadar Air

Tabel 1. Kadar air

| Pengujian ke- | Kadar Air (%) | Rara-rata (%) |
|---------------|---------------|---------------|
| I | 7.54 | |
| II | 7.51 | 7.49 |
| III | 7.41 | |

Kadar air dari serbuk daun kaf memiliki rata-rata sebesar 7,49%. Persentase kadar air yang rendah atau di bawah 10 % dapat mengoptimalkan ketahanan bahan pangan dari serbuk daun kaf dalam waktu yang relatif lama dan tidak mudah rusak.

EKsraksi

Tabel 2. Rendemen Hasil Maserasi

| Ekstrak | Rendemen (%) | Warna |
|-------------|--------------|------------------|
| n-Heksana | 6.285 | Hijau |
| Etil Asetat | 11,907 | Hijau kecoklatan |
| Metanol | 15.426 | Coklat |

Pelarut metanol mampu menghasilkan rendemen tertinggi dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n-heksan. Tingginya rendemen ekstrak metanol disebabkan banyaknya jumlah senyawa polar yang terkandung dalam daun kaf tersebut.

Kandungan Fitokimia

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak daun kaf dari ketiga pelarut

| Senyawa Metabolit Sekunder | Ekstrak | | |
|----------------------------|-----------|-------------|---------|
| | n-heksane | Etil asetat | Metanol |
| Alkaloid | | | |
| Mayer | - | + | + |
| Wagner | + | + | + |
| Dragendorf | + | + | + |
| Flavonoid | - | + | + |
| Saponin | + | + | + |
| Steroid | - | + | + |
| Triterpenoid | - | - | - |
| Tanin | - | + | + |

Komponen yang terdapat dalam ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol pada daun kaf menunjukkan bahwa skrining fitokimia terhadap sampel ekstrak daun kaf menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa; alkaloid, saponin, steroid, flavonoid dan tanin.

Aktivitas Antibakteri

Hasil dari uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi, dengan carasumuran agar hasil pengukuran rata-rata mendapatkan diameter zonahambat yang ada di ekstrak daun kaf terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichiacoli* dideskripsikan pada Gambar 1.

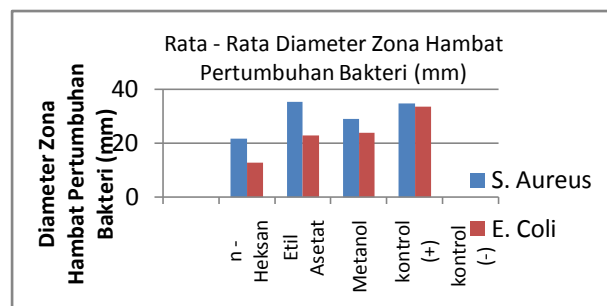
(a) (b)



Gambar 1.(a) *Staphylococcus aureus*, (b) *Escherichia coli*
Tabel 4. Hasil Pengukuran Rata - Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat, dan Methanol dari Daun Kaf (*Chisocheton sp. (C.DC). Harms*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichiacoli*, selama 1 jam.

| Konsentrasi | Rata - Rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri (mm) | |
|-------------|---|---------|
| | S. aureus | E. coli |
| | n - Heksan | 21.75 |
| Etil Asetat | 35.25 | 22.83 |
| Metanol | 29 | 23.75 |
| kontrol (+) | 34.75 | 33.5 |
| kontrol (-) | 0 | 0 |

Daya antibakteri dari ekstrak daun kaf (*Chisocheton sp. (C.DC). Harms*) dengan lama waktupencampuran 1 jam pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapatkan pada sampel ekstrak n-heksan (21.75 mm), ekstrak etil asetat (35.25 mm) mencapai kategori sangat kuat dan ekstrak metanol (29 mm) termasuk kuat. Sedangkan pada daya antibakteri *Escherichia coli* pada sampel ekstrak n-heksan (12.83 mm), ekstrak etil asetat (22.83) termasuk kuat, dan ekstrak metanol (23.75) dikategorikan sangat kuat.



Gambar 2. Persentase Rata-rata Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

Dalam penelitian ini aktivitas ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol dari daun kaf (*Chisocheton sp. (C.DC) Harms*) dengan lama waktu pencampuran 1 jam dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* lebih baik dibandingkan dengan bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Dinding sel gram positif biasanya tidak memiliki membran sel bagian luar yang ditemukan pada bakteri gram negatif.

4. Kesimpulan

Dari hasil pengujian fitokimia, ketiga ekstrak tersebut menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa; alkaloid, saponin, steroid, flavonoid dan tanin. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi menunjukkan hasil yang paling tinggi aktivitas antibakteri adalah ekstrak etil asetat dengan zona hambat 35,75 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada ekstrak metanol memiliki zona hambat 23,75 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Daftar Pustaka

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis 16th Ed. Association of Official Analytical Chemist. Washington DC, USA.
- Awang, K., Chong, L., Marthi, M.T., Mokhtar, R.M., Chan, G., Litaudon, M., Gueritte, F., and Mohamad, K. 2012. Malayanines A and B, two novel limonoids from *Chisochetonerythrocarpus* Hiern, *Tetrahedron Letters*, 53 : 5355-5359.
- Davis, W.W & Stout, T.R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. 22:659-665.
- Djide dan Sartini. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Lephass, Makasar.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan Ed 2nd*, ITB, Bandung.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung.
- Krisyanella, D. Marlina. 2009. *Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Serta Isolasi Senyawa Aktif Antibakteri dari Daun Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa (W.Ait) Hassk)*. Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
- Lay, B.W dan Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba diLaboratorium*. Edisi 1. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Mohamad, K., Hirasawa, Y., Lim, C.S., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Takeya, K., & Morita, H. 2008. *Ceramicines A and walsogyne A, novel limonoids from two species of Meliaceae*. Tetrahedron Letters, 49: 4276-4278.
- Najmuldeen, I. A., Ibrahim, A., Tasyriq, M., Lionel, L. A. I., Mohamad, K., Awang, K., and Hasima, N. 2012.7 α -hidroxy- β sitosterol from *Chisocheton tomentosus* Induces Apoptosis via Dysregulation of Cellular Bax/Bcl-2 Ratio and Cell Cycle Arrest by Downregulating ERK 1/2 Activation. Volume 2012.12-18.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemakan oleh Prof. Dr. Kosasih panda winata. Bandung. ITB.
- Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Edisi kelima. Penerjemah: Setiono, L. dan A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: PT Kalman Media Pusaka.
- Victor, L. 1980. *Antibiotics in Laboratory Test*. The Williams and Wilkins Company, USA.
- Wong, C.P., Shimada, M., Nagakura, Y., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Kaneda, T., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Mohamad, K., Shio, M., and Morita, H. 2011. *Ceramicines E-I, New Limonoids from Chisocheton ceramicus*. *Chem. Frm Bull.* 59:407-411.
- Yang, M.H., Wang, J.S., Luo, J.G., Wang, X.B., and Kong, L.Y. 2009. *Tetranortriterpenoids from ChisochetonPaniculatus*. *J. Nat. Prod.* 72: 2014-2018.