

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI Dan ANALISIS KLT-BIOAUTOGRAFI DARI
FRAKSI DAUN MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.)**

Ayu Natasya Paputungan¹⁾, Widya Astuty Lolo¹⁾, Imam Jayanto¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Mangosteen leaves have flavonoid compounds, tannins, and saponins that can be efficacious as antibacterial. The aim of this study was to determine the fraction of mangosteen leaves having an antibacterial effect and knowing the class of compounds identified as having antibacterial activity after TLC- Bioautography testing was carried out. The samples were extracted using 96% maceratarion method and fractioned using liquid-liquid fractionation method with methanol, n-hexane and ethyl acetate solvents, antibacterial activity using agar diffusion method (Kirby and Bauer) with 3 concetrations namely 10%, 20% and 30%. Thin Layer Chromatography (TLC) uses n-hexane and chloroform solvens. TLC-Bioautography uses contact bioautography methods. The resultd showed that mangosteen leaves in methanol fraction with a concentration of 30% had a very large inhibitory activity again Staphylococcus aureus and ethyl acetate fraction with a concentration of 30% had the gratest antibacterial activity against Escherichia coli. The results of the TLC- Bioautography study showed that the flavonoids compounds after spraying with AlCl₃ and the mangosteen leaf Biosutography test had inhibitory zone activity against the bacteria Staphylococcus aureus dan Escherichia coli.

Keywords: Mangosteen Leaves. Antibacterial, TLC Bioautography.

ABSTRAK

Daun manggis mempunyai senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fraksi daun manggis memiliki efek antibakteri dan mengetahui golongan senyawa yang teridentifikasi memiliki aktivitas antibakteri setelah dilakukan pengujian KLT Bioautografi. Sampel diektrak dengan metode maserasi dengan pelarut 96% dan difraksinasi dengan metode fraksinasi cair-cair dengan pelarut metanol, n-heksan dan etil asetat, aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar (*Kirby and Bauer*) dengan 3 kosentrasi yaitu 10%, 20% dan 30%. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan pelarut n-heksan dan klorofom. KLT-Bioautografi menggunakan metode bioautografi kontak. Hasil penelitian menunjukkan daun manggis pada fraksi metanol dengan kosentrasi 30% memiliki aktivitas zona hambat ppaling besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan fraksi etil asetat dengan kosentrasi 30% memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap *Escherichia coli*. Hasil penelitian KLT-Bioautografi menunjukkan golongan senyawa flavonoid setelah disemprotkan dengan AlCl₃ dan uji Bioautografi daun manggis memiliki aktivitas zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata kunci : Daun Manggis, Antibakteri, KLT- Bioautografi.

PENDAHULUAN

Saat ini penyakit infeksi masih menjadi masalah serius di Indonesia. Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan pada kewanusiaan. Penyebab infeksi berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur, dan protozoa. (Soekardjo dan Siswandono, 2000).

Bakteri *Staphylococcus aureus* berasal dari makanan dan bakteri ini menghasilkan racun yang dapat menimbulkan penyakit. Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri hidup di dalam usus manusia dan hewan. Beberapa jenis tertentu seperti *E.coli* dapat menyebabkan infeksi usus serius yang mengakibatkan diare, sakit perut, dan demam (Mustapa, dkk., 2011).

Daun manggis (*Garcinia mangostana Linn*). Mengandung senyawa tanin, flavonoid, dan saponin. Yang mempunyai keaktifan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Sari, 2018). Ekstrak etanol daun manggis (*Garcinia mangostana Linn*) memiliki senyawa aktif sebagai antibakteri pada konsentrasi 20% (Julianti, 2017).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2019. Tempat pengambilan sampel dilakukan di desa Pontodon, Kec. Kotamobagu Utara, Kota Kotamobagu. Preparasi sampel dilakukan di Laboratorium Penelitian Farmasi Lanjutan, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Bentuk Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental yaitu penelitian dilakukan untuk mengetahui sebab akibat yang ditimbulkan dari suatu perlakuan yang diberikan secara sengaja oleh peneliti.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jas lab, masker, sarung tangan, gunting, autoklaf, cawan petri (*Normax*), cawan porselin, chamber, gelas Erlenmeyer (*pyrex*), gelas kimia (*pyrex*), gelas ukur (*pyrex*), tabung reaksi, rak tabung reaksi, corong pisah, pinset, pembakar spiritus, inkubator, lemari pendingin, blender, batang pengaduk, oven, lampu spiritus, lampu UV 254 nm dan 366 nm, *Laminary Air Flow (N Biotek)*, aluminium foil, micropipet, pipet tetes, spatula, penangas air, oven, vial, jangka sorong, jarum ose, lempeng KLT, pipa kapiler, toples.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel ekstrak daun manggis (*Garcinia mangostana L*), akudes, bakteri uji *Escherichia coli* (gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (gram positif), Medium *Nutrient Agar (NA)*, Kloramfenikol *paper disk*, cakram (*paper disk*), n-heksan, etil asetat, metanol, label, *tissue*, aluminium foil, kertas saring, kapas, larutan H_2SO_4 1% , Larutan $BaCl_2 + 2H_2O$ 1,75% , pereaksi $AlCl_3$

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Sampel diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi, sebanyak 500 gr sampel dan dimasukan kedalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 2 L sampai sampel terendam secara keseluruhan. Lalu ditutup dengan menggunakan *aluminium foil* dan biarkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Selanjutnya sampel yang telah direndam disaring dengan menggunakan kertas saring dan menghasilkan filtrat 1 dan debris 1. dilakukan proses remaserasi selama 2 hari dengan merendam debris 1 dengan pelarut e tanol 96% sebanyak 1 L. Selanjutnya sampel disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 2 dan debris 2. Filtrat 1 dan 2 dicampur menjadi satu kemudian dimasukam keoven dengan suhu 40⁰C.

Fraksinasi

Fraksinasi sampel dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah. Dengan menggunakan tiga pelarut yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol. Sebanyak 10,00 g ekstrak kental dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan di larutkan dengan metanol sebanyak 100 mL. Setelah sampel larut, sampel dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL. kemudian dikocok berulang kali dalam corong pisah hingga homogen. Sampel dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yaitu lapisan metanol dan n-heksan. Masing-masing kedua lapisan metanol dan n-heksan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksan selanjutnya dipekatkan menggunakan *oven* hingga kering lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan

diperoleh fraksinat. Selanjutnya lapisan metanol dimasukkan kedalam corong pisah dan ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 100 mL. Sampel dibiarkan membentuk dua lapisan yaitu lapisan metanol dan lapisan etil asetat. Masing-masing kedua lapisan metanol dan etil asetat ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan etil asetat selanjutnya dipekatkan menggunakan *oven* hingga kering lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksinat. Lapisan metanol yang telah ditampung dipekatkan menggunakan *oven* hingga kering lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksinat.

Sterilisasi dan Pembuatan Media

Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dan media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Pinset, jarum ose, dan *L glass* dipijarkan diatas api bunsen.

Pembuatan Media *Nutrient Agar*

Ditimbang sebanyak 10,08 g *nutrient agar* kemudian dilarutkan dengan aquades sampai 360 mL, diaduk sampai homogen. Kmudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dibiarkan media sampai cukup dingin. Selanjutnya capet yang digunakan sebanyak 18 capet dan masing-masing capet dituangkan 20 mL media agar, kemudian dibiarkan sampai memadat.

Pembuatan Media Agar Miring

Pembuatan agar miring dilakukan dengan ditimbang 0,56 gr *Nutrient Agar* dan masukkan 20 ml aquades dan disterilkan

menggunakan autoklaf selama 15 menit, media yang telah disterilkan dimasukan dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL dalam 2 tabung disumbat dengan kapas steril dan dimiringkan sekitar 45° dan didiamkan memadat, tujuan pembuatan agar miring untuk peremajaan bakteri.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pembuatan Larutan standar Mc Farland 0,5

Larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan larutan $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1,75% sebanyak 0,05% mL dalam Erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh sebagai standar kekeruhan suspense mikroba uji.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang telah diinokulasi diambil ± 1 ose kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 mL larutan NaCL 0,9%. Selanjutnya dibandingkan dengan standar kekeruhan larutan Mc Farland 0,5.

Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol Positif untuk pengujian ini menggunakan Kloramfenikol *paper disc* dan untuk kontrol negatif menggunakan aquades.

Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan stok dengan konsentrasi 100% dengan cara ditimbang 1 g fraksi metanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan kemudian masing-masing dilarutkan dengan aquades hingga 1 mL. Larutan uji fraksi metanol, fraksi etil asetat, fraksi n-

heksan 10%, 20% dan 30% dibuat dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL untuk setiap konsentrasinya dan dicukupkan volumenya dengan aquades hingga 1 mL.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi agar. Aktivitas untuk penghambatannya diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Untuk diuji aktivitas antibakteri digunakan kertas cakram berukuran 6 mm. Disiapkan larutan uji fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol dengan berbagai konsentrasi 10%, 20% dan 30% selanjutnya media NA dituang masing-masing 20 mL kedalam cawan dalam 18 cawan petri hingga memadat. kemudian masukan suspensi bakteri uji dan diratakan menggunakan batang L. Sampel yang sudah ditentukan kosentrasinya ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet sebanyak 50 μ L. Kemudian dari masing-masing cawan petri diberi tanda dengan label sesuai dengan komponen pengujian. Kertas cakram yang sudah ditotolkan sampel uji serta kontrol positif dan kontrol negtif Diletakkan ke dalam cawan petri dengan menggunakan pinset dengan diatur jarak masing-masing cakram lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam.

Pengamatan dan Pengukuran Zona Bening

Pengamatan dilakukan setelah 1 x 24 jam masa inkubasi. Zona bening yang terbentuk sekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik dan

larutan uji antibakteri sebagai bahan uji. Diameter zona bening diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Kemudian zona bening yang telah diukur dibandingkan berdasarkan pedoman.

Pengujian Fraksi Teraktif dengan Metode KLT-Bioautografi

Fraksi yang memiliki zona hambat yang paling besar dilanjutkan pada pemantauan KLT, fraksi yang tinggi yaitu fraksi metanol dan fraksi etil asetat. Kemudian hasil pemantauan KLT dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode KLT-Bioautografi

Persiapan Plat KLT

Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan plat silika dengan ukuran 1cm x 10 cm. Selanjutnya diberi penanda garis pada tepi bawah plat pada jarak 1 cm untuk menunjukkan posisi awal totolan dan 1 cm dari tepi atas plat untuk menunjukkan batas dari proses elusi. Selanjutnya plat diaktifkan dengan cara dipanaskan pada suhu 105⁰C selama 10 menit.

Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Eluen yang digunakan untuk fraksi metanol yaitu eluen n-heksan dan klorofom dengan perbandingan 1:2 dan fraksi etil asetat menggunakan eluen n-heksan dan klorofom dengan perbandingan 1:1. Eluen yang berada di dalam bejana dijenuhkan terlebih dahulu selama 10 menit untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

Penotolan Sampel Fraksi

Fraksi metanol dilarutkan dengan aquades. Selanjutnya fraksi dengan konsentrasi 30% ditotolkan sebanyak 3x totolan (pada tempat yang sama) pada 3 lempeng yang berbeda. Dengan menggunakan pipa kapiler. Setelah eluen sampai garis dilakukan pengamatan pada lempeng pertama dibawah lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, lempeng kedua disemprotkan reagen $AlCl_3$ untuk melihat senyawa flavonoid, lempeng ketiga dipakai untuk uji bioautografi. Selanjutnya pengerjaan yang sama dilakukan pada fraksi etil asetat.

Uji Bioautografi

Sebanyak 20 μ L bakteri uji ditambahkan 25 ml medium NA. dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptis dengan menggunakan batang L agar merata dan dibiarkan memadat. Kromatogram hasil pemisahan senyawa secara KLT kemudian diletakkan di atas permukaan medium yang memadat. Didiamkan selama 30 menit dilemari pendingin. Kemudian lempeng (kromatogram) diangkat dan dikeluarkan dari medium. Selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel daun manggis dibersihkan dengan air mengalir. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 8 hari pada ruangan yang terhindar dari sinar matahari langsung, hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya kerusakan senyawa yang terkandung dalam sampel (Suryanto 2012).

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif yang ada didalam sampel. Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol 96%. Sampel direndam selama 3 hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya matahari kemudian sampel dilakukan remaserasi selama 2 hari dengan menggunakan pelarut etanol agar penyaringan sempurna. Hasil ekstrak daun manggis selanjutnya diuapkan menggunakan oven pada suhu 40°C. Penguapan ekstrak ini dimaksudkan agar air dan pelarut yang tersisa dalam ekstrak akan menguap. (Kowal, 2018).

Pada penelitian ini fraksinasi dilakukan dengan metode Fraksinasi Cair-Cair. Tujuan dilakukan proses fraksinasi yaitu untuk memisahkan golongan senyawa yang satu dengan golongan senyawa lainnya berdasarkan tingkat kepolaran. Pelarut yang digunakan metanol, etil asetat dan n-heksan. Pada proses fraksinasi dilakukan pengocokan terlebih dahulu terhadap corong pisah sebelum memperoleh 2 lapisan. Masing – masing dari pelarut akan memisahkan kelompok kandungan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran, (Wewengkang, 2014). Fraksi yang dihasilkan diuapkan menggunakan oven dan digunakan pada pengujian antibakteri.

Hasil rendemen bertujuan untuk melihat perbandingan jumlah ekstrak yang didapat dari proses ekstraksi, rendemen yang diperoleh dari ekstrak dan fraksi daun manggis menggunakan pelarut Etanol, metanol, etil asetat dan n-heksan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak dan fraksi Daun Manggis

No.	Sampel	Rendemen %	Warna sampel
1.	EE	12,76	hijau kehitaman
2.	FM	29,1	hijau keruh
3.	FE	27,9	hijau kehitaman
4.	FN	15,5	hijau kehitaman

Rendemen dari masing-masing ekstrak untuk ekstrak etanol didapatkan massa dari ekstrak 63,83 g dari massa awal sampel 500 g, dan didapatkan rendemen 12,76 % dengan warna filtrat hijau kehitaman, filtrat n-heksan berwarna hijau kehitaman dengan massa hasil ekstrak 1,55 g, dan didapatkan rendemen 15,5 %, filtrat etil asetat berwarna hijau kehitaman dengan massa hasil ekstrak sebanyak 2,79 g dan didapatkan rendemen 27,9 %. Dan filtrat metanol berwarna hijau keruh dengan massa hasil ekstrak sebanyak 2,91 g, sehingga didapatkan rendemen 29,1 %. Hasil rendemen dari ketiga fraksi di dapatkan bahwa senyawa daun manggis paling banyak ditarik oleh pelarut yang bersifat polar yaitu fraksi metanol dengan nilai rendemen 29,1 %. Hal ini dikarenakan pelarut metanol mampu menarik lebih banyak senyawa – senyawa aktif dari sampel. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa sebagian senyawa aktif yang terdapat pada daun manggis bersifat polar.

Uji Aktivitas Antibakteri Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L)

Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi methanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dengan menggunakan metode difusi agar (Kriby and

Bauer) dan menggunakan kertas cakram. Penghambatan pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekeliling kertas cakram (Brooks, 2005). Penggunaan bakteri bertujuan untuk melihat apakah fraksi dari daun manggis ini memiliki aktivitas antibakteri serta apakah mempunyai spektrum. Dalam pengujian ini, dilakukan pengamatan selama 1x24 jam dengan 3 kali pengulangan.

Hasil pengujian yang didapat dari antibakteri fraksi metanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan, kontrol positif dan kontrol negatif terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*.

Rata-rata Diameter Total (mm) pada tiga konsentrasi			
	10 %	20 %	30 %
Fraksi methanol	11,90	14,08	16,58
Fraksi etil asetat	10,75	13,25	14,75
Fraksi N-heksan	7,50	7,43	8,45
Kontrol positif	17	17	17,5
Kontrol negative	0	0	0

Hasil yang diperoleh untuk aktivitas antibakteri fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* menunjukkan nilai rata-rata yang berbeda-beda. Pada fraksi metanol dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% dikategorikan kuat, fraksi etil asetat dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% dikategorikan kuat. Dan untuk fraksi n-heksan pada konsentrasi 10%, 20% dan 30% dikategorikan sedang. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan Sari (2018) bahwa daun manggis *Garcinia mangostana* Linn. Mengandung senyawa tannin,

flavonoid dan saponin yang mempunyai keaktifan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 3. Hasil rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri uji *Escherichia coli*.

Rata-rata Diameter Total (mm) Pada Tiga Konsentrasi			
	10%	20%	30%
Fraksi Metanol	11,80	12,41	14,91
Fraksi Etil-asetat	14,16	15,00	17,58
Fraksi N-heksan	6,60	6,66	8,33
Kontrol Positif	18	18	18,25
Kontrol Negatif	0	0	0

Hasil yang diperoleh untuk aktivitas antibakteri fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan terhadap bakteri uji *Escherichia coli* menunjukkan nilai rata-rata yang berbeda-beda. Pada fraksi metanol dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% dikategorikan kuat, fraksi etil asetat dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% dikategorikan kuat. Dan untuk fraksi n-heksan pada konsentrasi 10%, 20% dan 30% dikategorikan sedang. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan Julianti (2017) bahwa ekstrak daun manggis memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Dalam pengujian ini digunakan kontrol positif yang berfungsi sebagai pembanding antara antibakteri yang sudah terstandarisasi dengan larutan fraksi. Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik kloramfenikol. Menggunakan kloramfenikol dikarenakan kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas dan antibiotik ini bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik). Hasil yang diperoleh kloramfenikol pada bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 30 % hasil

yang diperoleh yaitu 18,25 mm dikategorikan kuat, dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 30 % diperoleh daya hambat rata-rata 17,5 mm. Hal ini dikarenakan antibiotik kloramfenikol lebih peka terhadap bakteri *Escherichia coli* (Gram negatif) (Katzung, 2004).

Kontrol negatif yang digunakan yaitu aquades, Fungsi dari kontrol negatif ini untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri. Aquades menunjukkan tidak adanya zona hambat pada pengujian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* maupun bakteri *Escherichia coli*. sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan bukan berasal dari pelarut melainkan berasal dari aktivitas senyawa yang terdapat dalam sampel daun manggis.

Pengujian Fraksi Teraktif Dengan Metode KLT-Bioautografi

Hasil fraksi dari uji antibakteri dipilih konsentrasi yang memiliki zona hambat yang paling besar, dan zona hambat yang besar yaitu fraksi metanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan fraksi etil asetat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Analisis kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk memisahkan dan memurnikan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam sampel. Pemisahan komponen terjadi atas dasar distribusi 2 fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak mengalir kedalam fase diam dan membawa komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda (Astriani, 2011).

KLT dilakukan dengan menggunakan plat silica gel dengan ukuran 2 cm x 10 cm, eluen yang digunakan pada fraksi metanol yaitu n-heksan dan klorofom 1:2, dan pada fraksi etil asetat menggunakan eluen n-heksan dan klorofom 1:1, pemilihan eluen ini didasarkan pada hasil optimasi eluen yang telah dilakukan, dimana pada eluen ini menghasilkan pemisahan terbaik dengan jumlah noda terbanyak setelah dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm,

Pengujian KLT-Bioautografi dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa apa yang memberikan aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat dan fraksi metanol daun manggis *Garcinia mangostana* L. Metode yang digunakan dalam KLT-Bioautografi ialah metode kontak. Fraksinat metanol di uji dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan fraksinat etil asetat diuji dengan bakteri uji *Escherichia coli*. Didiamkan selama 30 menit kemudian lempeng kromatografi tersebut diangkat dari permukaan medium. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari lempeng kromatogram ke dalam media agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu 1x24 jam sampai noda yang menghambat pertumbuhan bakteri uji tampak pada permukaan medium membentuk zona daya hambat.

Berdasarkan hasil KLT-Bioautografi bahwa fraksinat metanol menunjukkan bercak pada nilai rf 0,00 yang memberikan aktivitas antibakteri kepada bakteri uji *Staphylococcus aureus* yang menunjukkan adanya zona bening dan pada fraksinat etil asetat menunjukkan bercak pada nilai rf 0,00 yang memberikan antibakteri kepada bakteri uji *Escherichia coli*. Bakteri yang dihambat pada setiap nilai Rf satu dengan nilai Rf

yang lain terkadang sama dan terkadang pula berbeda. Hal ini diakibatkan oleh bercak pada setiap nilai Rf menunjukkan senyawa yang berbeda satu dengan yang lainnya, sehingga kemampuan penghambatannya pun berbeda (Astriani, 2011).

Identifikasi Senyawa Aktif

Hasil uji kualitatif identifikasi senyawa fraksi metanol dan fraksi etil asetat daun manggis *Gracinia mangostana* L. Diuji kandungan senyawa flavonoidnya menggunakan pereaksi Aluminium Klorida ($AlCl_3$) dilihat pada perubahan warna bercak menjadi warna kuning, pada fraksi metanol terdapat nilai Rf 0,00, 0,18, 0,36 dan 0,62 dan pada fraksi etil asetat nilai Rf terdapat pada 0,00 dan 0,56. Menurut Ahmad (2015) penyempotan dengan menggunakan $AlCl_3$ untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid akan menimbulkan bercak menjadi berwarna kuning. Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar (Harborne, 1996).

Menurut Rustama dan Lingga (2005) bahwa aktivitas senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino. Lipid dan asam amino tersebut akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan flavonoid masuk kedalam inti sel bakteri. Di dalam inti sel, flavonoid akan bereaksi berkontak dengan DNA dan menyebabkan rusaknya struktur lipid DNA sehingga bakteri akan lisis dan sel akan mati. Reaksi pengrusakan struktur lipid DNA disebabkan perbedaan kepolaran

antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol flavonoid

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian, dapat disimpulkan bahwa pengaruh ekstrak daun manggis sebagai berikut:

1. Fraksinat daun manggis memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Dan aktivitas zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 30%.
2. Diduga salah satu senyawa yang teridentifikasi yaitu flavonoid setelah dilakukan uji KLT-Bioautografi.

SARAN

Disaran kan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode dilusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R.A. Juwita. Ratulangi, D.A.S. Malik, A. 2015. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Original article*, 2(1) : 2457-2354.
- Brooks, G. L., J.S. Butel, S.A Morse. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*, Salemba Medika, Jakarta.
- Harborne J.B. 1996 Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Meanganalisis Tumbuhan, Terbitan ke-2. ITB Press, Bandung.

- Julianti, R. 2017. Pengaruh Ekstrak Daun Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* sebagai Pengayaan Bahan Ajar Praktikum Mikrobiologi, *Artikel Ilmiah*, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jambi, Jambi.
- Katzung. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Penerbit EGC, Jakarta.
- Kowal, A., Esther, A., Nickson, K., Kurniati, K., Henky, M., Deiske, H. 2018. Potensi Antibakteri Karang Lunak *Lobophytum* sp. Dari Perairan Pangalisang Pulau Bunaken Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Platax*. 6(2) 54-57.
- Lingga, M.E., Rustama, M.M. 2005. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus* sp) dan Udang Rebon (*Mysis dan Acetes*). *Jurnal Biotika*. 5 (2).
- Mustapa, S. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol daun Manggis Kuning (*Garcinia dulcis*) Terhadap Bakteri, *Skripsi*, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan dan Keolahragaan, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo.
- Sari, F.N.G. Turahman, T. 2018. Aktivitas Antibakteri Esktrak dan Fraksi Daun Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1(4) : 255-260.
- Soekardjo, B., Siswandono, 2000. *Kimia Medisinal*, Surabaya, UNAIR Press.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Wewengkang, D., Deiske. S., Hengki. R. 2014. Karakterisasi dan Bioaktif Antibakteri Senyawa Spons *haliclona* sp. dari Teluk Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. 1(1).