

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSAN DAUN JATI (*Tectona grandis* L.F)

Andi Armisman Edy Paturusi¹, Nurafianty¹, Rusli², Abdul Rahim³

¹Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

²Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia Makassar

³Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar

ABSTRACT

Research about Isolation and identification of jati leave extract have been done. The purpose of this research is to isolate and identify the antibacterial compound of jati leave. The sample was used in this research obtained from Pharmacognocny-Phytochemistry Laboratory Islamic State University of Alauddin Makassar collection. These sample have antibacterial activity to *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa* and *Staphylococcus epidermidis* when conducted by Bioautography Thin Layer Chromatography (TLC). Second fraction was isolated by Preparative Thin Layer Chromatography (PTLC) and result 2 bands. The second isolat tested by Bioautography Thin Layer Chromatography (TLC) and showing antibacterial activity to *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhosa* and it was single isolat when treat by multi-eluen TLC and two dimension. The next step identify the second isolat by spot reagen and showing positif reaction steroid compound. Ultraviolet spectroscopy interpretation have maximum wavelength 242 nm and infrared spectroscopy showing -OH, -CH alifatic, -CO, -CH₃, alkanes, alkenes and -C=C.

Keywords: *Isolation, Identification, Antibacterial and Steroid*

PENDAHULUAN

Tanaman yang biasa digunakan masyarakat sebagai bahan obat adalah tanaman jati (*Tectona grandis* L.F). Daun jati secara empiris banyak digunakan sebagai obat kolesterol, jantung, obat kegemukan, hipertensi, diabetes dan borok. Penggunaan obat-obat antibiotika semakin berkembang pesat, seiring dengan banyaknya penggunaan antibiotika sehingga menyebabkan banyaknya terjadi resistensi, dari hal tersebut maka perlu digali antimikroba yang baru. (Suwandi 1991, 46-49).

Berbagai penelitian telah dilakukan terhadap daun jati (*Tectona grandis* L.F) diantaranya pemeriksaan fitokimia ekstrak etanol daun jati. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, saponin, tanin galat, tanin katekol, kuinon dan steroid triterpenoid. Satu senyawa flavonoid telah diisolasi dari fraksi etil asetat ekstrak etanol secara kromatografi lapis tipis preparatif dan berdasarkan spektrum ultraviolet-sinar tampak, diperkirakan isolat tersebut merupakan senyawa 5,7,3,4,-tetrahidroksi flavon. Hasil kromatografi kertas ekstrak etanol

menunjukkan adanya sembilan senyawa asam fenolat (Hartati 2005, 1).

Telah dilakukan ekstraksi dan fraksinasi n-heksan daun jati (*Tectona grandis* L.F) dan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, dan *Vibrio sp.* (Armisman 2009, 53). Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif dari ekstrak dan fraksi n-heksan daun jati (*Tectona grandis* L.F).

METODE PENELITIAN

Bahan

Aluminium klorida, aquadest, aseton, besi (III) klorida, biakan murni (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, dan *Vibrio sp.*), Dragendorf, etil asetat, fraksi II hasil isolasi ekstrak n-heksan daun jati (*Tectona grandis* L.F), Glucosa Nutrient Broth (GNB), kloroform, Liebermann- Burchard, metanol, n-heksan, Nutrient Agar (NA), silika gel G 60 F254(E. Merck), dan Vanilin asam sulfat.

Penyiapan dan Pengolahan Sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah fraksi II hasil isolasi ekstrak n-heksan daun jati yang merupakan koleksi Laboratorium Farmakognosi Fitokimia UIN Alauddin Makassar.

KLT Bioautografi Fraksi II dan Isolat Ekstrak n-Heksan Daun Jati (*Tectona grandis* L.F)

Fraksi II dan isolat I dan II hasil KLTP hasil isolasi ekstrak n-heksan daun jati diuji dengan KLT Bioautografi terhadap *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, dan *Vibrio sp.* Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT).

Isolasi Senyawa Antibakteri

Isolasi senyawa antibakteri dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Fraksi II kemudian ditotol pada lempeng KLTP secara berderet dan dielusi dengan eluen n-heksan : etil asetat (5 : 1) dan diperoleh 2 pita. Masing-masing pita dikeruk dan dilarutkan dengan kloroform : metanol (1:1) kemudian disaring untuk memisahkan silika gel.

Uji Pemurnian Senyawa Aktif

1. KLT sistem multi eluen

Pengujian ini dilakukan dengan menotolkan isolat aktif pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan eluen aseton : etil asetat (2 : 1), heksan : aseton (1 : 2) dan kloroform: aseton (1:4).

2. KLT dua dimensi

Pengujian ini dilakukan dengan menotolkan isolat aktif pada lempeng KLT dengan ukuran 10x10 cm kemudian dielusi pada arah I dengan eluen aseton : etil asetat (2 : 1) dan arah II dengan eluen kloroform : aseton (1 : 4).

Identifikasi Sampel

1. Identifikasi pereaksi kimia

Isolat II ditotol pada beberapa lempeng KLT kemudian masing-masing disemprot dengan Liebermann-Burchard, Vanilin asam sulfat, Dragendorf, aluminium klorida dan besi (III) klorida.

2. Identifikasi spektrofotometri UV-Vis

3. Identifikasi spektrofotometri Inframerah

HASIL PENELITIAN

1. KLT Bioautografi Hasil Uji Bioutografi Fraksi II, Isolat I dan Isolat II Isolat Ekstrak n-Heksan Daun Jati (*Tectona grandis* L.F)

Hasil pengujian fraksi II, isolat I dan isolat II dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Bioutografi Fraksi II, Isolat I dan Isolat II Isolat Ekstrak n- Heksan Daun Jati (*Tectona grandis* L.F)

No	Sampel	Bakteri yang dihambat
1	Fraksi II	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Salmonella typhi</i>
2	Isolat I	Tidak memberikan efek
3	Isolat II	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Salmonella typhosa</i>

2. Pengujian isolat II dengan KLT sistem multi eluen

Hasil uji pemurnian Isolat II dengan KLT sistem multi eluen diperoleh satu noda seperti pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai Rf dan warna bercak pada kromatogram isolat II dengan KLT sistem multi eluen.

Eluen	Nilai Rf			Warna Bercak		
	UV	UV	H ₂ SO ₄	UV	UV	H ₂ SO ₄
	254 nm	366 nm	10%	254 nm	366 nm	10%
Aseton : Etil asetat (2 : 1)	0,50	0,50	0,50	Hijau	Ungu	Coklat
Heksan : Aseton (1 : 2)	0,30	0,30	0,30	Hijau	Ungu	Coklat
Kloroform: Aseton (1 : 4)	0,40	0,40	0,40	Hijau	Ungu	Coklat

3. Pengujian isolat II dengan KLT dua dimensi

Hasil uji pemurnian Isolat II dengan KLT sistem dua dimensi diperoleh satu noda seperti pada tabel 3.

Tabel 3. Nilai Rf dan warna bercak pada kromatogram isolat II dengan KLT dua dimensiArah	Nilai Rf			Warna Bercak		
	UV	UV	H ₂ SO ₄	UV	UV	H ₂ SO ₄
	254 nm	366 nm	10%	254 nm	366 nm	10%
1	0,85	0,85	0,85	Hijau	Ungu	Coklat
2	0,82	0,82	0,82	Hijau	Ungu	Coklat

4. Identifikasi pereaksi kimia

Hasil karakterisasi isolat II menggunakan reagen kimia Liebermann-Burchard memberikan hasil positif warna merah kecoklatan dan reagen vanilin asam sulfat memberikan hasil positif warna ungu pada nilai Rf 0,54 yang menunjukkan golongan senyawa steroid.

PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah fraksi II n-heksan daun jati di mana pada penelitian sebelumnya ekstrak n-heksan daun jati ini aktif terhadap 6 bakteri yaitu *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, dan *Vibrio sp* yang diuji secara KLT Bioautografi. Pengujian ini dipilih karena dapat melokalisir antibakteri pada kromatogram meskipun dalam senyawa aktif tersebut masih merupakan senyawa kompleks.

Lempeng kromatografi tersebut ditempatkan di atas permukaan medium Nutrien Agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa bakteri yang dianalisis. Setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi tersebut dipindahkan dan diangkat dari permukaan medium. Senyawa antimikroba yang telah berdifusi dari lempeng kromatogram ke dalam media agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan suhu yang tepat sampai noda yang menghambat pertumbuhan mikroba uji nampak pada permukaan membentuk zone jernih.

Fraksi II yang aktif selanjutnya diisolasi dengan KLTP agar diperoleh pemisahan yang baik sehingga mempermudah proses isolasi di mana KLTP ini menghasilkan 2 pita. Isolat II yang merupakan isolat tunggal menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhosa* dengan pengujian KLT Bioautografi.

Selanjutnya dilakukan pengujian kemurnian dengan KLT sistem multi eluen dan KLT dua dimensi. Pada KLT multi eluen, digunakan 3 eluen yang masing-masing hasilnya menunjukkan 1 bercak dengan nilai Rf yang berbeda-beda sesuai dengan tingkat kepolaran eluen yang digunakan. Sedangkan pada KLT dua dimensi, digunakan dua eluen yang pertama pada arah I dan eluen kedua

pada arah II. Hasilnya menunjukkan satu bercak yang dilihat pada UV 254, UV 366 dan H₂SO₄ 10%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat II merupakan senyawa tunggal.

Identifikasi dengan penampak bercak yaitu Liebermann-Burchard dan Vanilin- H₂SO₄. Pada penampak bercak Liebermann- Burchard dihasilkan bercak dengan warna merah kecoklatan pada UV 366 sedangkan pada vanillin-H₂SO₄ menghasilkan bercak dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa isolat II ekstrak n-heksan daun jati merupakan senyawa golongan steroid.

Identifikasi selanjutnya dengan menggunakan spektrofotometri ultraviolet dan inframerah. Interpretasi data spektrum ultraviolet menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 242 nm. Sedangkan interpretasi data spektrum inframerah menunjukkan adanya gugus hidroksil (OH) pada bilangan gelombang 3348,42 cm⁻¹ yang diperkuat gugus OH pada bilangan gelombang 1172,72 cm⁻¹ dan 1111,00 cm⁻¹. Gugus CH alifatis pada bilangan gelombang 2924,09 cm⁻¹ dan 2854,65 cm⁻¹ dan diperkuat gugus CH₂ pada bilangan gelombang 1458,18 cm⁻¹, 2731,20 cm⁻¹ dan 2677,20 cm⁻¹. Gugus CO pada bilangan gelombang 1705,07 cm⁻¹. Gugus C=C pada bilangan gelombang 1643,35 cm⁻¹, 1604,77 cm⁻¹

dan 1504,48 cm⁻¹. Gugus metil (CH₃) pada bilangan gelombang 1373,32 cm⁻¹. Gugus alkan pada bilangan gelombang 1249,87 cm⁻¹, 1203,58 cm⁻¹. Dan gugus alken pada bilangan gelombang 972,12 cm⁻¹ yang diperkuat dengan gugus alken pada bilangan gelombang 902,69 cm⁻¹, 833,25 cm⁻¹ dan 725,23 cm⁻¹. Data tersebut ditunjang dengan penampak bercak yang memberikan hasil positif terhadap senyawa golongan steroid.

KEPUSTAKAAN

- Agoes, Azwar dan T. Jacob. *Antropologi Kesehatan Indonesia Jilid 1 Pengobatan Tradisional*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC, 1992.
- Armisman, A. E. P. *Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa Antibakteri Daun Jati (Tectona grandis L. F)*. Makassar: 2009.
- Garrity, G. M., Bell. J. A, and Lilburn. T. *G.Taxonomic Outline of the Prokaryotes Brgey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition*. New York Berlin Hendelberg, United Stated of America: Springer, 2004.
- Hartati, R., Asep, G. S. dan Komar R. *Detail Penelitian Obat Bahan Alam, Telaah Flavonoid dan Asam Fenolat Daun Jati (Tectona grandis L. F Verbenaceae)*. Bandung: Sekolah Farmasi ITB, 2005 (<http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>, diakses 13 Agustus 2009)
- Hostettman, K., M. Hostettman, dan A. Marston. *Cara Kromatografi Preparatif : Penggunaan pada isolasi senyawa alam*; terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB, 1995.
- Suwandi, U. *Resistensi Mikroba terhadap Antibiotik*. Jakarta: Grup PT Kalbe Farma, 1991 (online) ([http :www](http://www).

- Kalbe Farma.com, diakses
13 Agustus 2009).
- Stahl, Egon. *Analisis Obat Secara
Kromatografi dan Mikroskopi*.
Bandung: Penerbit ITB, 1985.
- Sudjadi. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta:
Penerbit Kanisius Fakultas Farmasi
UGM, 1998.