

**FRAKSINASI SENYAWA ANTIMIKROBA DAUN  
ANAK DARA (*Croton oblongus* Burm f.)**

**MUKHRIANI, ANDI ARMISMAN EDY PATURUSI, AZWAR NASHIR AS**

*Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*

**ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian Fraksinasi Senyawa Antimikroba Daun Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui komponen kimia dan aktivitas antimikroba dari ekstrak teraktif daun anak dara terhadap beberapa mikroba uji. Penelitian dilakukan dengan uji skrining menggunakan mikroba uji terhadap ekstrak n-heksandan etanol 96% daridaun anak dara (*Croton oblongus* Burm f.) dengan konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, dan 1500 ppm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% memberikan hambatan pertumbuhan bakteri *Escherchia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeroginosa*, *Vibrio colera*, dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak teraktif selanjutnya difraksinasi dengan uji KLT-Bioautografimenunjukkan bahwa Fraksi A ekstrak etanol 96% memberikan hambatan yang baik pada nilai Rf 0,89. Uji efektivitas fraksi teraktif pada konsentrasi 1500 ppm, 1000 ppm, dan 500 ppm diperoleh hasil berturut-turut *Escherchia coli*, 0,81cm dan 0,72, *Bacillus subtilis*, 0,90 cm dan 0,85cm, *Streptococcus mutans*, 0,75 cm dan 0,71 cm, dan *Vibrio colera* 0,74 cm dan 71 cm, sedangkan pada konsentrasi 500 ppm tidak memberikan hambatan. Hasil diidentifikasi golongan senyawa aktif fraksi A mengandung senyawa flavonoid.

**Kata kunci:** daun anak dara (*Croton oblongus* Burm f.), antimikroba

## PENDAHULUAN

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia, termasuk golongan ini yang akan dibicarakan yang berhubungan dengan bidang farmasi antara lain antibiotika, antiseptika, desinfektansia, preservatif (Djide, 2008).

Penelitian antimikroba telah banyak dilakukan terutama dari berbagai jenis tanaman rempah-rempah. Namun, para ilmuwan terus berusaha untuk mencari sumber antimikroba baru, terutama yang mudah tumbuh di Indonesia. Tumbuhan yang digunakan untuk obat tradisional dapat dijadikan alternatif pencarian antimikroba, karena pada umumnya memiliki senyawa aktif yang sangat berperan dalam bidang kesehatan. Penggunaan obat-obat antibiotik semakin berkembang pesat seiring dengan banyaknya penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan banyak terjadi resistensi (Swandi. 1991).

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional merupakan warisan nenek moyang kita secara turun-temurun. Akan tetapi dari sekian banyak tanaman yang digunakan sebagai obat belum banyak yang diteliti secara ilmiah, baik mengenai komponen aktifnya maupun mekanisme kerjanya. Oleh karena itulah diperlukan berbagai penelitian dan pengembangan bahan alam yang dapat digunakan sebagai obat untuk menunjang peningkatan pelayanan kesehatan pada masyarakat.

Tumbuhan Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.) yang ada di Kabupaten Sinjai secara empiris digunakan sebagai kosmetik. Meskipun digunakan secara luas sebagai terapi tradisional, tetapi masih kurangnya pengetahuan dan informasi yang memadai Anak Dara. Kandungan kimiadaun Anak Dara belum diketahui karena masih kurangnya penelitian tentang tumbuhan tersebut.

Berdasarkan uraian di atas, maka hal inilah yang mendasari perlunya penemuan senyawa aktif. Penelitian aktivitas antimikroba dianggap perlu demi menambah informasi tentang khasiat dan senyawa aktif dari tumbuhan Anak Dara.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun Anak Dara yang diperoleh dari Sinjai, aquadest, biakan murni (*Escherchia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeroginosa*, *Vibrio colera*, *Salmonella thypi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcusepidermidis*, dan *Candida albicans*.), DMSO (Dimetil Sulfoksida), HCL, silika gel 60 GF254, etanol 96 %, n-heksan, medium Nutrient Agar (NA), larutan fisiologis Natrium Klorida (NaCl) 0,9%, aluminium foil, piper disk, aluminium klorida, besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>), dragendorff, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, dan Liebermann-Burchard.

## Cara Kerja

### 1. Pengambilan dan Pengolahan

#### Sampel

Daun Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.) diambil di kab.Sinjai. Pengambilan daun dilakukan dengan cara memetik daun. Sampel yang telah dikumpulkan kemudian dibersihkan. Daun yang telah diperoleh dikeringkan kemudian dihaluskan dan siap diekstraksi.

### 2. Ekstraksi dan Fraksinasi

Simplisia daun Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.) sebanyak 300 gram maserasi bertingkat dengan penyari pertama dengan n-heksan. Dibiarkan selama dua kali 24 jam dan dilakukan selama 3 kali berturut-turut. Ekstrak n-heksan yang diperoleh dipisahkan dengan alat rotavapor. Ampas yang diperoleh maserasi kembalidengan pelarut etanol 96 % dengan cara yang sama dengan pelarut n-heksan. Hasil rotavapor dan dikeringkan hingga diperoleh ekstrakkering. Masing-masing ekstrak diskroning aktivitas antimikrobanya.

Ekstrak larut etanol 96% sebagai ekstrak teraktif selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan metode isolasiKromatografi Cair Vakum (KVC) dengan gradien kepolaran semakin meningkat(etil asetat : metanol (12:1), (9:1), (6:1), (3:1), (1:1), (1:3), (1:6), (1:9),(1:10), (1:12), (1:15), (1:18),(1:21), (1:24), (1:10)), dengan fase diam silika gel GF 254. Fraksi-fraksi yang

diperoleh selanjutnya diamati profil KLTnya. Fraksi yang memiliki kromatogram dan warna bercak yang sama digabungkan dan diuji aktivitas antibakteri dengan metode KLT-Bioautografi dan daya hambatnya.

### 4. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang diperlukan dicucudengan detergen, wadah mulut lebar dibersihkan dengan larutan detergen selama 15-30 menit diikuti dengan pembilasan pertama dengan HCL 0,1% dan terakhir dengan air suling. Alat-alat yang dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka setelah kering dibungkus dengan kertas perkamen. Tabung reaksi dan gelas erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat-alat dari kaca disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat suntik seperti spoit yang tidak tahan dalam pemanasan tinggi, disterilkan pada autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Jarum inokulasi atau ose disterilkan dengan pemanasan langsung hingga memijar.

### 5. Penyiapan dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan diremajakan dalam medium Nutrein Agar (NA) miring dan diinkubasi selama 1x 24 jam pada suhu 37°C, sedangkan jamur pada medium Patato Dekstrosa Agar (PDA) dan diinkubasi 3x24 jam pada suhu kamar. Kultur biakan yang diremajakan disuspensikan dengan

NaCl fisiologis (NaCl 0,9%) kemudian diukur kekeruhannya 25% T untuk bakteri dan 75% T untuk jamur pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 580 nm.

#### **6. Skrining, Pengujian Fraksi Aktif dengan Metode KLT-Bioautografi dan Uji Efektivitas Fraksi Teraktif**

Skrining ekstrak dan efektivitas fraksi teraktif antimikroba dilakukan dengan difusi agar dengan menggunakan cakram kertas (*paper disc*). Cakram kertas ditetesi dengan fraksi teraktif sebanyak 20 µl dengan masing-masing konsentrasi 1500 ppm, 1000 ppm dan 500 ppm, kemudian paper disk diletakkan pada permukaan medium yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam untuk bakteri dan diinkubasi 3x24 jam pada suhu kamar, diukur daerah hambatan (zona).

Fraksi – fraksi gabungan selanjutnya diuji aktivitas senyawa antimikrobanya dengan metode Kromatografi Lapis Tipis–Bioautografi yaitu dengan meletakkan lempeng KLT di atas permukaan medium agar padat selama 15 - 30menit yang sebelumnya telah dielusi. Hasil pengujian KLT-bioautografi dengan spot/noda yang memberikan zona penghambatan pada permukaan media agar.

#### **7. Identifikasi Bercak Aktif dengan Beberapa Penampakan Bercak**

Kromatogram disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot dan

dinilai Rf senyawa yang dihasilkan dicocokkan dengan Rf zona hambat pada uji KLT-Bioautografi:

1. Alkaloid : Pereaksi yang digunakan Dragendorf akan dihasilkan warna jingga dengan latar belakang kuning untuk senyawa golongan alkaloida
2. Steroid : Pereaksi yang digunakan Liebermann-Burchard. Kromatogram terlebih dahulu dipanaskan, kemudian diamati di lampu UV. Munculnya noda berfluoresensi coklat atau biru menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.
3. Flavanoid : Pereaksi yang digunakan Aluminium klorida diamati di lampu UV, akan dihasilkan noda berfluoresensi kuning untuk senyawa golongan flavonoid.
4. Fenol : Pereaksi yang digunakan Besi (III) Klorida akan dihasilkan warna biru atau hijau untuk senyawa golongan fenol.
5. Penampak bercak  $H_2SO_4$ : Kromatogram dipanaskan pada 105 °C selama 5 menit dan diamati. Kebanyakan senyawa organik memberikan warna kuning, coklat, hitam.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada tahap penelitian, digunakan metode maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat merupakan suatu proses penyarian simplisia dengan

menggunakan lebih dari satu jenis larutan penyari berdasarkan tingkat kepolaran. Larutan penyari atau pelarut yang digunakan adalah n-heksan untuk menarik senyawa non polar dan etanol 96 % untuk menarik senyawa polar. Masing-masing pelarut yang berbeda sifat kepolarannya tersebut melarutkan komponen-komponen bioaktif yang berbeda.

Dari hasil maserasi yang dilakukandiperoleh ekstrak etanol 96% 37,6 gram dan ekstrak n-neksan 23,92 gram. Hal ini menunjukkan bahwa Daun Anak Dara (*Crotonoblongus* Burm f.) lebih banyak mengandung senyawa yang bersifat polar dibandingkan senyawa yang bersifat non polar.

Uji skrining aktivitas antibakteri ekstrak n-neksan dan ekstrak etanol 96 % terhadap mikroba uji *Escherchia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonasaeroginosa*, *Vibrio colera*, *Salmonella thypi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcusepidermidis*, dan *Candida albicans*. Pengujian skrining ini dilakukan untuk mengetahui ekstrak yang aktif sebagai inhibitor pada pertumbuhan bakteri dengan cara mengamati zona hambat bening disekitar piper disk yang telah di tetesi 20 µl sampel pada konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 500 ppm, 1000 ppm, dan 1500 ppm. Perbedaan konsentrasi dibuat untuk mengetahui tingkat efektivitas ekstrak menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi sampel dibuat dengan melarutkan 20 mg ekstrak dengan 0,2 ml

DMSO dan ditambahkan 9,8 ml aquadest steril, kemudian diencerkan sesuai nilai konsentrasi yang diinginkan. DMSO merupakan salah satu pelarut sampel yang melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non-polar. Selain itu, DMSO tidak memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan. Berdasarkan hasil pengujian, diketahui ekstrak etanol 96 % merupakan ekstrak paling aktif dibanding dengan ekstrak n-heksan.

Tabel 1: Hasil Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Anak Dara (*Crotonoblongus* Burm f.) Terhadap Mikroba Uji.

Sampel	Konsentrasi	Diameter Hambat Mikroba Uji (Cm)								
		BS	EC	PA	SA	SM	ST	SE	VB	CA
Ekstrak etanol 96%	500 ppm	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	-	-	0,9	-
	1000 ppm	1	1	0,96	0,9	1	-	-	1	-
	1500 ppm	1,1	1,03	1	1	1,03	-	-	1,1	-
Ekstrak n-heksan	500 ppm	0,7	0,73	0,7	-	0,73	-	-	-	-
	1000 ppm	0,8	0,76	0,8	-	0,76	-	-	-	-
	1500 ppm	0,8	0,8	0,8	-	0,83	-	-	-	-

Keterangan :  
 BS : *Bacillus subtilis*  
 EC : *Escherchia coli*  
 PA : *Pseudomonasaeroginosa*  
 ST : *Salmonella thypi*  
 SA : *Staphylococcus aureus*  
 SE : *Staphylococcusepidermidis*  
 SM : *Streptococcus mutans*  
 VB : *Vibrio colera*  
 CA : *Candida albicans*  
 - : Tidak menghambat pertumbuhan mikroba

Pemisahan komponen senyawa ekstrak etanol 96 % daun Anak Dara secara kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam silika gel GF254 dan campuran fase gerak yang sesuai lebih dahulu dilakukan untuk menentukan perbandingan eluen yang akan digunakan pada saat fraksinasi. Lempeng kromatogram yang telah dielusi dengan perbandingan eluen etil asetat : metanol 1:3 menunjukkan adanya pemisahan setelah deteksi bercak pada lampu UV 254 nm dan UV 366 nm.

Ekstrak yang aktif terhadap pertumbuhan bakteri kemudian difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV). Tahap ini dilakukan untuk menghasilkan pemisahan senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan alat vakum. Pemilihan metode ini karena prosesnya cepat dan mudah. Sebelum difraksinasi, dilakukan preparasi alat dan bahan, kromatografi vakum cair menggunakan silika gel 60 (63-200 µm). kolom kromatografi dikemas dalam keadaan kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan maksimum. Perbandingan eluen pelarut kemudian dituangkan ke permukaan penjerap, dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksinya.

Eluen pelarut dibuat dengan perbandingan yang berbeda-beda, dimulai dari pelarut yang kepolarannya rendah hingga pelarut yang lebih polar. Dari hasil fraksinasi, diperoleh 13 fraksi yang kemudian di KLT dengan fase gerak etil

asetat:metanol 1:3. Kromatogram fraksi yang memiliki warnabercak dan nilai Rf yang sama digabungkan sehingga diperoleh empat gabungan fraksi. Dari empat gabungan fraksi yang diperoleh kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode KLT-Bioautografi. Metode ini didasarkan pada difusi agar dimana senyawa antimikrobanya akan berdifusi dari lapisan lempeng kromatogram ke medium agar yang masing-masing telah diinokulasikan dengan bakteri uji yang peka, pada uji inibakteri yang digunakan yaitu (*Escherchia coli, Bacillus subtilis, Streptococcus mutans, Pseudomonas aeroginosa, Vibrio colera, dan Staphylococcus aureus*). Berdasarkan hasil uji KLT-Bioautografi, hanya fraksi gabungan A yang paling aktif menghambat pertumbuhan keenam bakteri uji. Hal ini ditandai adanya zona

Bening pada daerah lempeng kromatogram

Tabel 2: Hasil Uji KLT-Bioautografi Fraksi Etanol 96 % Daun Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.). Terhadap Bakteri Uji.

Fraksi	Bakteri Uji						Rf
	E C	S M	V B	B S	P A	S A	
A	+	+	+	+	+	+	0,89
B	-	-	-	-	-	-	
C	-	-	-	-	-	-	
D	-	-	-	-	-	-	

Keterangan :

BS : *Bacillus subtilis*

EC : *Escherchia coli*

PA : *Pseudomonasaeruginosa*

SA : *Staphylococcus aureus*

VB : *Vibrio colera*

SM : *Streptococcus mutans*

+ : Menghambat pertumbuhan mikroba

- : Tidak menghambat pertumbuhan bakteri

Tabel 3: Hasil uji kadar hambat minimum fraksi teraktif dengan bakteri uji Daun AnakDara (*Croton oblongus* Burmf.).

Fra ksi	Konse ntrasi	Diameter Hambat Bakteri Uji (Cm)					
		E C	S M	V B	B S	P A	S A
A	1500 ppm	0, 81	0, 75	0, 74	0, 90	-	-
	1000 ppm	0, 72	0, 71	0, 71	0, 85	-	-
	500 ppm	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

BS : *Bacillus subtilis*

EC : *Escherchia coli*

PA : *Pseudomonasaeruginosa*

SA : *Staphylococcus aureus*

VB : *Vibrio colera*

SM : *Streptococcus mutans*

- : Tidak menghambat pertumbuhan bakteri

Fraksi gabungan A diidentifikasi komponen senyawa menggunakan berbagai pereaksi identifikasi. Hasil positif (+) ditunjukkan pada identifikasi dengan pereaksi Aluminium Klorida dengan perlakuan dipanaskan dan diamati UV 366 nm ditandai warna noda berfluoresensi hijau untuk mengandung senyawa flavanoid pada Rf 0,89.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa

1. Ekstrak etanol 96% memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio sp*, dan *Streptococcus mutans*.
2. Gabungan fraksi A memberikan efektivitas antibakteri paling besar pada pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 1500 ppm untuk *Bacillus subtilis* 0,90 cm, *Escherichia coli* 0,81 cm, *Staphylococcus aureus* 0,74 cm, dan *Streptococcus mutans* 0,75 cm dengan nilai Rf 0,81.
3. Senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri memberikan hasil positif terhadap penampakan bercak golongan flavonoid.

## KEPUSTAKAAN

- Ariningsih, Rizki Istya. *Isolasi Streptomyces dari Rizosfer Familia Poaceae Yang Berpotensi Menghasilkan Efek Antijamur terhadap Candida albicans*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2009.
- Djide, M. Natsir, dan Sartini. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lembaga Penerbitan Unhas. 2008.
- Djide, M. Natsir, dkk. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lembaga Penerbitan UnHas, 2008.
- Edy Paturusi, Andi Armisman. "Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa Antibakteri Daun Jati". *Laporan*

- Hasil Penelitian.* Makassar : Universitas Islam Negeri Alauddin. 2005.
- Ervizal, Rahayu, W.P, Wijaya, C.H, dan Sari,P.P. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia rosburghii* G. Don) Terhadap Bakteri (online). Buletin Teknologi dan Industry Pangan. Vol. XII no. 1. 2011.
- Fajariah, Ika Nur. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.) Terhadap Staphylococcus aureus dan Shigella dysenteriae Serta Bioautografinya.* Surakarta. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2009
- Hostetmann, K., M. Hostettmann dan A. Marston. Cara Kromatografi Preparatif. Penggunaan Pada Isolasi Senyawa Alam. Penerjemah Dr. Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. 1985.
- Jawertz, E. Melnick, dkk. *Mikrobiologi Kedokteran.* Jakarta. EGC, 1996.
- Mulyati, Endah Sri. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Ceremai (Phyllanthus acidus (L.) Skeels) Terhadap Staphylococcus aureus Dan Escherechia coli Dan Bioautografinya.* Surakarta. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2009.
- Pelczar, Michael J. and Chan. E.C.S. *Dasar-Dasar Mikrobiologi.* Terjemahan oleh Hadioetomo,
- Ratna sari dkk. Jakarta. Universitas Indonesia. 2008.
- Pratiwi, Sylvia T. *Mikrobiologi Farmasi.* Jakarta. Penerbit Erlangga. 2008.
- Sastroamidjojo, H. *Kromatografi.* Liberty. Yogyakarta. 1985.
- Sudjadi. Metode Pemisahan. Edisi I. Kanisus. Yogyakarta. 1988.
- Sutrisno, R.B. *Pereaksi KLT (Kromatografi Lapis Tipis).* Jakarta. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. 1993.
- Swandi, U. 1991. *Resistensi Mikroba Terhadap Antibiotik.* Jakarta. Grup PT. Kalbe Farma. (online) (<http://www.KalbeFarma.com>). 2011