

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA
AKTIF DAUN SENGGANI (*Melastoma candidum* D.Don)
TERHADAP *Bacillus Licheniformis***

Ari Eka Suryaningsih¹⁾, Sri Mulyani¹⁾, Estu Retnaningtyas N²⁾

¹⁾Prodi P.Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Sebelas Maret

²⁾Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret

Email : sri.mulyanis@uns.ac.id

ABSTRAK

Senggani (*Melastoma candidum* D.Don) merupakan salah satu tanaman obat. Banyak sekali penyakit yang dapat diobati oleh tanaman ini, diantaranya gangguan pencernaan makanan (dispepsi), disentri basiler, diare, hepatitis, keputihan (leukorea), sariawan, busung air dan bisul. Suatu obat dapat dikatakan berhasil apabila obat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit tersebut atau bersifat antibakteri. Bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan adalah daun, akar, buah, dan biji. Pada penelitian ini dilakukan uji antibakteri ekstrak metanol daun senggani terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 0,1 g/mL, 0,2 g/mL, 0,3 g/mL, 0,4 g/mL, 0,5 g/mL, 0,6 g/mL, 0,7 g/mL, 0,8 g/mL, 0,9 g/mL, 1 g/mL. Kemudian memisahkan ekstrak daun senggani dengan kromatografi kolom menggunakan pelarut n-heksan : kloroform : asam asetat (7 : 2 : 2) dan mengidentifikasi senyawa aktif yang terdapat dalam daun senggani dengan penapisan fitokimia dan penegasan dengan KLT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun senggani memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis* dengan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 1 g/mL yaitu 20,95 mm. Sedangkan fraksi kolom teraktif memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat 15,40 mm pada konsentrasi 0,2 g/mL. Dari kromatografi kolom dihasilkan fraksi no.1-4 yang memiliki aktivitas antibakteri dan fraksi no.12-39 yang tidak memiliki aktivitas antibakteri. Dari hasil penapisan fitokimia diketahui senyawa yang terkandung di dalam daun senggani merupakan golongan senyawa tanin dan flavonoid. Sedangkan fraksi teraktif hasil kromatografi kolom mengandung golongan senyawa flavonoid.

Kata kunci : daun senggani, bakteri *Bacillus licheniformis*, antibakteri, kromatografi kolom, senyawa aktif

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan berbagai jenis tanaman, hal ini didukung oleh keadaan tanah yang subur serta iklim yang cocok. Banyak diantara tanaman-tanaman tersebut yang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu zat aktif dalam pengobatan, yang biasa dikenal dengan sebutan obat tradisional. Penggunaan obat tradisional sudah mulai banyak dilakukan dengan tujuan untuk menghemat biaya pengobatan yang semakin mahal dan memanfaatkan potensi kekayaan alam di Indonesia yang sangat beragam.



Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman senggani (*Melastoma candidum D.Don*). Tanaman senggani termasuk ke dalam famili *Melastomataceae* yang tumbuh liar pada tempat-tempat yang mendapat cukup sinar matahari, seperti di lereng gunung, semak belukar, lapangan yang tidak terlalu gersang, atau di daerah objek wisata sebagai tanaman hias. Banyak sekali penyakit yang dapat diobati oleh tanaman ini, diantaranya gangguan pencernaan makanan (dispepsi), disentri basiler, diare, hepatitis, keputihan (leukorea), sariawan, busung air dan bisul. Bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan adalah daun, akar, buah, dan biji (Dalimartha, S., M. Angela., C. M. Nusatya, 1999).

Kebanyakan dari penyakit tersebut disebabkan oleh bakteri yang bersifat patogen. Misalnya saja disentri basiler yang disebabkan oleh *Shigella dysenteriae sp.* dan gangguan pencernaan yang dapat disebabkan oleh *Bacillus licheniformis*. Suatu obat dapat dikatakan berhasil apabila obat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit tersebut atau bersifat antibakteri.

Berdasarkan penelitian pendahuluan (Estu Retnaningtyas N & Sri Mulyani, 2009), ekstrak metanol daun senggani mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*, yang berarti ekstrak metanol mempunyai aktivitas antibakteri. Sedangkan ekstrak kloroform dari daun senggani tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun senggani terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis* dan memisahkan serta mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam daun senggani.

METODOLOGI EKSPERIMEN

a. Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun Senggani (*Melastoma candidum D.Don*) yang diambil dari Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP₂TO₂T) Tawangmangu.

b. Pembuatan serbuk

Daun senggani yang sudah kering diblender sampai membentuk serbuk daun senggani

c. Ekstraksi

500 gram serbuk daun Senggani direndam dengan pelarut organik metanol selama \pm 24 jam dan kemudian disaring dengan kertas saring. Pelarut metanol diuapkan dengan *Rotary* Evaporator hingga diperoleh ekstrak kental untuk selanjutnya disebut dengan ekstrak daun Senggani. Proses maserasi, penyaringan, dan evaporasi dilakukan sebanyak 2 kali ulangan.

d. Pemisahan dan Penentuan Golongan Senyawa Aktif Daun Senggani

1) KLT (Kromatografi Lapisan Tipis)

Eluen dimasukkan ke dalam chamber dan chamber dibiarkan dalam keadaan jenuh. Ekstrak pekat daun senggani ditotolkan pada plat KLT dan dimasukkan dalam chamber berisi eluen. Didiamkan sampai terjadi elusi dan dilihat noda yang terbentuk. Eluen yang menghasilkan noda dan jarak pemisahan



yang cukup jauh digunakan sebagai eluen dalam kromatografi kolom (Ashadi, 2008)

2) Kromatografi Kolom

Bubur silika dimasukkan ke dalam kolom ukuran panjang 60 cm diameter 2 cm, kolom dielusi dengan eluen hasil KLT dan diamkan selama satu malam. Ekstrak senggani 3 gram yang dilarutkan dalam 5 ml larutan fase gerak (n-heksan : kloroform : Asam Asetat (7 : 2 : 2) dimasukkan ke dalam kolom dan dielusi sampai pemisahan berakhir sambil mengontrol hasil kolom dengan KLT. Tiap 7 ml hasil elusi ditampung dengan vial dan hasilnya dianalisis dengan KLT. Penentuan golongan senyawa fraksi teraktif menggunakan deteksi perpendaran di bawah sinar lampu UV serta deteksi spesifik yang sesuai dengan masing-masing golongan (Sanusi Ibrahim, 1998).

e. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Pembuatan Kurva Standar

Biakan murni *B. licheniformis* diregenerasi dalam erlenmeyer berisi MHB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Sebanyak 1 mL kultur murni diambil dan dimasukkan ke dalam 9 mL MHB dan dihitung sebagai pengenceran pertama (10^{-1}). Kultur dalam pengenceran pertama divortex kemudian diambil 1 mL kultur dan dimasukkan ke dalam 9 mL MHB. Pengenceran ini dihitung sebagai pengenceran kedua (10^{-2}) begitu seterusnya hingga pengenceran keenam. Masing-masing pengenceran diambil 25 μ L kultur dan dituang ke dalam MHA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C lalu dihitung jumlah selnya. Masing-masing kultur pada seri pengenceran diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 480 nm. Panjang gelombang tersebut digunakan karena berdasarkan percobaan dapat menunjukkan nilai absorbansi terhadap seri pengenceran kultur bakteri dengan ketelitian tertinggi dibanding panjang gelombang lainnya.

2. Uji Daya Hambat

Biakan murni *B. licheniformis* diregenerasi dalam erlenmeyer berisi MHB, diinkubasi pada suhu ruang dan dishaker selama 24 jam kemudian dihitung konsentrasi selnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi kultur sel diencerkan hingga mencapai 1×10^{-6} CFU/mL. Media MHA dibuat sebanyak 100 mL dalam erlenmeyer untuk *B. licheniformis* kemudian disterilisasi. Kultur bakteri yang sudah diencerkan dimasukkan ke dalam MHA sebanyak 4 ml untuk setiap 100 ml MHA dalam kondisi aseptis. MHA dituang dalam cawan petri sebanyak 10 mL dalam kondisi aseptis kemudian didinginkan. Pada media MHA kemudian dibuat sumuran dan dimasukkan ekstrak Senggani sebanyak 25 μ L untuk tiap sumuran lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi ekstrak Senggani yang digunakan adalah 0,1 g/mL, 0,2 g/mL, 0,3 g/mL, 0,4 g/mL, 0,5 g/mL, 0,6 g/mL, 0,7 g/mL, 0,8 g/mL, 0,9 g/mL, 1 g/mL. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan ada tidaknya zona hambat kemudian diukur diameter zona hambat yang berupa zona bening di sekeliling sumuran, pengukuran dilakukan 3 kali pada sisi yang berbeda. Sebagai kontrol digunakan kontrol metanol, amoksisilin dan kontrol CMC. Cara yang sama dilakukan untuk uji daya hambat fraksi aktif hasil kromatografi kolom ekstrak metanol daun Senggani.



f. Identifikasi senyawa

Identifikasi adanya senyawa golongan flavonoid, tanin/polifenol dan saponin dilakukan berdasarkan metode yang dirujuk oleh Harborne (1987).

1) Uji flavonoid

Ekstrak ditambah heksana dan diaduk, kemudian fase heksana dihilangkan. Perlakuan diulang sampai larutan heksana tidak berwarna. Residu dilarutkan dengan etanol absolut dibagi menjadi 2 tabung, tabung 1 sebagai blangko dan tabung 2 untuk uji. Tabung 2 ditambah dengan 2 tetes HCl pekat, diamati warna yang terjadi dan dibandingkan dengan blangko. Tabung 2 dihangatkan diatas penangas air selama 15 menit, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Terbentuknya warna merah kuat atau violet, menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

2) Uji tanin/polifenol

Ekstrak ditambah aquadest panas, kemudian diaduk dan didinginkan. Setelah itu 5 tetes NaCl 10% ditambahkan kemudian disaring. Filtrat dibagi 3 bagian, bagian A, B, dan C. Filtrat A digunakan sebagai blangko, ke dalam filtrat B ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl_3 dan kedalam filtrat C ditambah larutan gelatin, kemudian diamati perubahan yang terjadi. Jika terbentuk endapan pada filtrat C maka terdapat tanin. Jika terbentuk warna hijau kehitaman pada filtrat B menunjukkan adanya tanin terhidrolisa, jika terbentuk warna hijau kecoklatan pada filtrat B menunjukkan adanya senyawa tanin terkondensasi dan terbentuk warna selain warna diatas menunjukkan adanya senyawa polifenol.

3) Uji saponin

Diambil 1 mg ekstrak dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Ekstrak ditambah aquadest dengan perbandingan 1 mg : 1 μL aquadest, kemudian dikocok dan didiamkan. Jika terbentuk buih yang tidak menghilang selama 30 menit, maka ekstrak tersebut mengandung saponin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

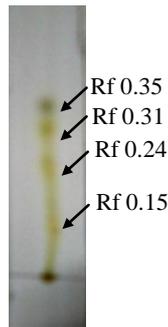
Ekstraksi

Serbuk daun senggani yang diekstraksi dengan metanol dengan metode maserasi dihasilkan ekstrak kental sebanyak 54,26 g. Ekstrak kental ini sebagian dibuat seri konsentrasi 0,1g/mL, 0,2g/mL, 0,3g/mL, 0,4g/mL, 0,5g/mL, 0,6g/mL, 0,7g/mL, 0,8g/mL, 0,9g/mL, 1 g/mL untuk uji antibakteri dan sebagian ekstrak kentalnya lagi digunakan untuk pemisahan senyawa aktif yang terkandung dalam daun senggani.

Pemisahan Senyawa Aktif

Pemisahan senyawa dalam ekstrak metanol daun senggani dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan pelarut n-heksan : kloroform : asam asetat (7 : 2 : 2). Hasil KLT ekstrak daun senggani menunjukkan ada 4 noda pemisahan pada $R_f1 = 0,35$; $R_f2 = 0,31$; $R_f3 = 0,24$; $R_f4 = 0,15$ (Gambar 1).





Gambar 1. Hasil KLT ekstrak daun senggani

Pemisahan senyawa untuk mengetahui senyawa aktif dalam ekstrak daun senggani tersebut dilakukan dengan kromatografi kolom. Pelarut n-heksan : kloroform : asam asetat (7 : 2 : 2) dipilih sebagai fase gerak karena berdasarkan hasil KLT secara teoritis keempat senyawa yang terpisah tersebut dapat dipisahkan dengan kromatografi kolom.

Dari hasil kolom dihasilkan 70 fraksi dimana fraksi no.1-4 sejenis di jadikan satu. Hasil KLT fraksi no.1-4 setelah dievaporasi menampakkan 3 noda warna kuning kehijauan pada sinar tampak dengan $Rf_1=0,40$, $Rf_2=0,35$, dan $Rf_3=0,28$. Sedangkan fraksi no.12-39 menampakkan flourosensi merah muda di bawah lampu Ultra Violet (UV) dengan harga Rf sebesar 0,22. Fraksi-fraksi inilah yang akan diuji untuk mengetahui aktivitas antibakterinya.

Uji Antibakteri

Ekstrak daun senggani mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis* yang ditandai adanya zona bening di sekitar sumuran (Gambar 3). Hasil pengukuran zona hambat ekstrak metanol daun senggani pada *B. licheniformis* dilihat pada Tabel 1 dan gambar 3.

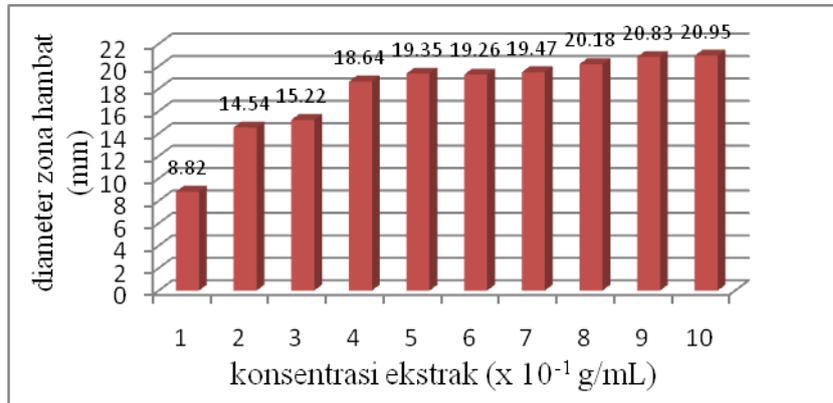
Tabel 1. Hasil uji antibakteri ekstrak metanol daun senggani terhadap bakteri *B. licheniformis*

Konsentrasi ekstrak (g/mL)	Diameter zona hambat (mm)
0,1	8,82
0,2	14,54
0,3	15,22
0,4	18,64
0,5	19,35
0,6	19,26
0,7	19,47
0,8	20,18
0,9	20,83
1	20,95
Kontrol Amoxicillin (0,001)	26,44
Kontrol CMC (0,001)	0
Kontrol Metanol	0

Keterangan diameter zona hambat terbesar

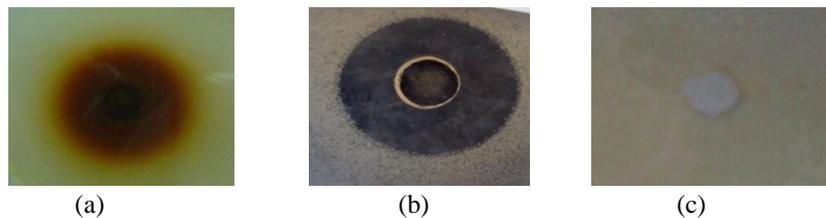


Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun senggani memiliki daya hambat terhadap *B. licheniformis*. Diameter zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 1 g/mL yaitu 20,95 mm. Diameter zona hambat cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak



Gambar 2. Diagram hubungan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* terhadap konsentrasi ekstrak metanol daun senggani

Kemampuan daun senggani dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* ini membuktikan bahwa kandungan senyawa pada tanaman daun senggani berpotensi sebagai bahan antibakteri. Kandungan senyawa dalam daun senggani ini kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom dan hasil pemisahan dari kromatografi kolom ini diuji antibakteri. Dari hasil kromatografi kolom dengan fase gerak n-heksan : kloroform : asam asetat (7 : 2 : 2) didapat fraksi yang sejenis yaitu fraksi no.1-4 (28 ml), kemudian fraksi tersebut dijadikan satu dan selanjutnya disebut fraksi A. Demikian juga untuk fraksi sejenis no.12-39 (119 ml) dijadikan satu dan selanjutnya disebut fraksi B. Sebelum digunakan untuk uji antibakteri, pelarut yang masih terdapat dalam fraksi diuapkan terlebih dahulu. Uji antibakteri dilakukan dengan cara yang sama seperti pada ekstrak metanol daun senggani. Uji antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui fraksi mana yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. licheniformis*. Konsentrasi fraksi yang digunakan adalah 0,2 g/mL. Hasil dari pengujian ini menunjukkan bahwa fraksi A mampu menghambat sedangkan fraksi B tidak menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *B. licheniformis*. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi yang aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* adalah fraksi A. Diameter zona hambat fraksi A pada konsentrasi 0,2 g/mL adalah 15,40 mm dan diameter ini lebih besar daripada diameter zona hambat ekstrak daun senggani. Hasil uji antibakteri dari fraksi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil uji antibakteri (a) ekstrak daun senggani (b) fraksi A (c) fraksi B

Pengujian Golongan Senyawa Aktif Antibakteri

Hasil pengujian penapisan fitokimia ekstrak daun senggani dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia ekstrak daun senggani

Golongan Senyawa	Perubahan Berdasarkan Teori (jika ekstrak terdapat golongan uji)	Perubahan yang Terjadi pada Waktu Pengujian	Ket
Tanin	terbentuk endapan (adanya tanin), terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman (tanin terhidrolisa), dan hijau kecoklatan (tanin terkondensasi).	Terbentuk endapan dan terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman.	+
Flavonoid	Perubahan warna menjadi merah kuat atau violet.	Perubahan warna menjadi merah tua	+
Saponin	Terbentuk busa yang stabil selama ± 30 menit.	Terbentuk busa yang tidak stabil.	-

Ekstrak daun senggani menunjukkan uji positif adanya tanin dan flavonoid, sedangkan untuk uji saponin menghasilkan hasil yang negatif. Ini berarti ekstrak daun senggani mengandung golongan senyawa tanin dan flavonoid.

Kemudian ekstrak daun senggani dilakukan uji penegasan golongan senyawa dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yang bertujuan untuk mempertegas golongan-golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak daun senggani. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun senggani mengandung golongan senyawa tanin, dan flavonoid. Oleh karena itu, uji penegasan dilakukan pada golongan senyawa tanin dan flavonoid. Pengembang (fase gerak) yang digunakan adalah n-heksana : kloroform : asam asetat (7 : 2 : 2). Plat KLT yang telah dielusi kemudian disemprot dengan reagen spesifik dan diamati warna noda yang terbentuk. Untuk identifikasi golongan senyawa tanin, reagen yang digunakan adalah FeCl_3 1%, sedangkan untuk identifikasi flavonoid reagen yang digunakan adalah AlCl_3 1%. Dari hasil KLT ekstrak daun senggani tersebut menunjukkan bahwa setelah plat disemprot dengan reagen AlCl_3 1% terbentuk noda berwarna kekuningan di bawah sinar tampak. Warna noda yang terbentuk ini hampir sama dengan warna noda standar flavonoid yang digunakan. Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak daun senggani mengandung golongan senyawa flavonoid. Sedangkan uji positif adanya golongan senyawa tanin ditunjukkan dengan adanya warna hitam abu-abu setelah plat KLT disemprot dengan FeCl_3 1%. Hasil KLT ekstrak daun senggani menunjukkan bahwa noda yang berwarna hitam abu-abu masih terletak di bawah dan ini berarti senyawa tanin dalam ekstrak daun senggani belum dapat dipisahkan dengan pelarut yang digunakan.

Uji golongan senyawa juga dilakukan pada fraksi A yang memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *B. licheniformis*. Hasil KLT menunjukkan bahwa fraksi A positif memberikan noda berwarna kekuningan setelah disemprot AlCl_3 1%. Hal ini berarti bahwa senyawa aktif antibakteri



dalam fraksi A yang memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* mengandung senyawa golongan flavonoid.

KESIMPULAN

- Ekstrak daun senggani memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* dengan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 1 g/mL yaitu 20,95 mm. Fraksi kolom teraktif memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat 15,40 mm pada konsentrasi 0,2 g/mL.
- Senyawa aktif yang terkandung di dalam daun senggani dapat dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan pelarut n-heksana : kloroform : asam asetat (7 : 2 : 2). Dari kromatografi kolom dihasilkan fraksi A (yang memiliki aktivitas antibakteri dan fraksi no.12-39 yang tidak memiliki aktivitas antibakteri.
- Dari hasil penapisan fitokimia diketahui senyawa yang terkandung di dalam daun senggani merupakan golongan senyawa tanin dan flavonoid. Sedangkan fraksi teraktif hasil kromatografi kolom mengandung golongan senyawa flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashadi. 2008. *Hand Out Dasar-Dasar Kromatografi*. UNS, Surakarta
- Dalimartha, S., M. Angela., C. M. Nusatya. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta, Niaga Swadaya.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro. Bandung : Penerbit ITB
- Sanusi Ibrahim. 1998. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Padang: Pasca Sarjana Universitas Andalas.
- Estu Retnaningtyas N., Sri Mulyani. 2009. *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Senggani (Melastoma candidum D.Don) Terhadap Pertumbuhan Shigella dysenteriae dan Staphylococcus aureus serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*. Prosiding Seminar Kimia dan Pendidikan Kimia, Teknologi Informatika Dalam Mendukung Perkembangan Research dan Pembelajaran Kimia, Surakarta 8 Maret: 487-498.

