

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAN FRAKSI
n-HEKSAN:KLOOROFORM:ASAM ASETAT (7:2:2) DARI DAUN
Melastoma candidum D.Don TERHADAP PERTUMBUHAN *Salmonella*
*Typhi***

Sri Mulyani¹⁾, Sofiatun¹⁾, Estu Retnaningtyas N²⁾

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

²⁾Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret

Email: mulyanis@yahoo.com ; sri.mulyani@uns.ac.id

ABSTRAK

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tanaman Senggani. Senggani (*Melastoma candidum D.Don*) adalah salah satu tumbuhan di Indonesia yang dikenal mempunyai khasiat sebagai antimikroba, antibiotik. Daun senggani rasanya pahit, dan diketahui mengandung saponin, flavonoida, dan tanin. Golongan senyawa-senyawa ini sering dipergunakan sebagai bahan dasar obat-obatan modern. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi n-heksan:kloroform:asam asetat (7:2:2) dari daun Senggani terhadap pertumbuhan bakteri *S.typhi*, serta mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam daun Senggani yang mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *S.typhi*. Dalam penelitian ini digunakan metode uji di laboratorium. Daun senggani yang sudah kering dihaluskan, sebagian diekstrak langsung dengan metanol dan sebagian yang lain sebelum diekstrak dengan metanol diekstrak terlebih dahulu dengan kloroform (ekstraksi partisi). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Filtrat hasil ekstraksi dievaporasi sampai diperoleh slury. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitasnya terhadap bakteri *S. Typhi*. Sebagian ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi langsung dengan metanol (tidak dipartisi) dipisahkan komponennya dengan kromatografi kolom dengan menggunakan fase gerak n-heksan : kloroform : Asam Asetat (7 : 2 : 2). Dari hasil kromatografi kolom dengan panjang kolom 20 cm, diameter 2 cm dan 1 L fase gerak diperoleh beberapa fraksi. Fraksi pertama berupa larutan tidak berwarna yang merupakan pelarut/fase gerak, fraksi kedua disebut Fraksi A (28 ml) berwarna coklat kehitaman, fraksi ketiga (49 ml) berwarna coklat kekuningan adalah transisi fraksi A dan B, fraksi keempat disebut fraksi B (119 ml) berwarna kuning, dan fraksi sisa tidak berwarna. Dari fraksi-fraksi tersebut hanya fraksi A dan B yang memberikan noda saat di lakukan KLT dengan pengamatan dibawah sinar tampak dan sinar UV 254 nm. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak kloroform tidak menunjukkan aktifitas anti bakteri. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol setelah dipartisi dengan kloroform menunjukkan zona hambatan di atas 20 mm dengan variasi konsentrasi dari 20 % sampai 100 % (berat/volum) dan diameter zona hambat terbesar $29,163 \pm 0,792$ mm pada konsentrasi 30 % (b/v). Untuk ekstrak metanol yang tidak dipartisi menunjukkan zona hambatan 20 mm atau lebih untuk konsentrasi 40 % atau lebih dan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 0,6 g/mL yaitu $21,51 \pm 0,20$ mm. Fraksi n-heksan:kloroform:Asam Asetat (7:2:2) dari kromatografi kolom hanya fraksi A yang mempunyai aktivitas antibakteri.



Pada konsentrasi 20 % Fraksi A memberikan zona hambat sebesar $15,40 \pm 0,42$ mm dan termasuk golongan senyawa flavonoid.

Kata kunci : daun senggani, *Salmonella typhi*, antibakteri, kromatografi kolom, senyawa aktif

PENDAHULUAN

Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut sistemik akut dan endemis di Indonesia yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Demam tifoid masih merupakan masalah besar kesehatan khususnya di berbagai negara sedang berkembang. Menurut WHO diperkirakan bahwa 12,5 juta kasus terjadi setiap tahun di seluruh dunia (tidak termasuk Cina) dengan angka mortalitas tinggi. Di daerah endemis di Indonesia dilaporkan umur penderita antara 3-19 tahun mencapai 91% kasus. Patogeneisis *S. typhi* utamanya diatasi dengan pengobatan antibiotik karena berhubungan dengan keadaan bakteremi. Antibiotik yang digunakan untuk mengatasi demam tifoid selama ini adalah Kloramfenikol dan Amoksisilin. Namun dengan munculnya beberapa kasus resisten maka diperlukan adanya usaha untuk menemukan bentuk antiobiotik baru yang bisa pas digunakan.

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional berkhasiat antibakteri adalah tanaman Senggani. Senggani (*Melastoma candidum D.Don*) adalah salah satu tumbuhan di Indonesia yang dikenal mempunyai khasiat obat. Tanaman senggani (*Melastoma candidum D.Don*) tumbuh liar pada tempat-tempat yang mendapat cukup sinar matahari, seperti di lereng gunung, semak belukar, lapangan yang tidak terlalu gersang atau di daerah obyek wisata sebagai tanaman hias. Daun senggani rasanya pahit, dan diketahui mengandung saponin, flavonoida, dan tanin dimana tanin dan flavonoid adalah 2 senyawa paling aktif pada senggani (Jaganath *et al*, 2000). Golongan senyawa-senyawa ini sering dipergunakan sebagai bahan dasar obat-obatan modern, dimana senyawa ini mempunyai khasiat salah satunya sebagai antimikroba. Senggani secara ilmiah telah dipercaya memiliki aktivitas antimikroba (Estu Retnaningtyas N dan Sri Mulyani, 2009). Kemampuan senggani sebagai antimikroba sudah banyak diketahui, akan tetapi masih perlu dilakukan penelitian dan pembuktian secara ilmiah mengenai senyawa apa saja yang mempunyai aktivitas antimikroba tersebut

Pengetahuan tentang tumbuhan obat merupakan warisan budaya bangsa turun temurun. Kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan ternyata tidak mampu begitu saja menghilangkan arti pengobatan tradisional. Apalagi keadaan perekonomian Indonesia saat ini yang mengakibatkan harga obat-obatan modern menjadi mahal. Oleh karena itu salah satu alternatif pengobatan yang dilakukan adalah meningkatkan penggunaan tumbuhan berkhasiat obat di kalangan masyarakat. Agar peranan obat tradisional dalam pelayanan kesehatan masyarakat dapat ditingkatkan, perlu dilakukan upaya pengenalan, penelitian, pengujian dan pengembangan khasiat dan keamanan suatu tumbuhan obat.

Selama ini Senggani banyak digunakan untuk mengatasi gangguan pencernaan (dispepsi), disentri basiler, diare, hepatitis, keputihan (leukorea), sariawan, haid berlebihan, wasir darah, pendarahan rahim, berak darah (melena), keracunan singkong, dan radang dinding pembuluh darah.



S. typhi yang dikenal merupakan bakteri penyebab penyakit tipus yang menular ini mempunyai masa inkubasi pada umumnya 10-14 hari. Gejala dini mencakup demam, perut kembung, sukar buang air besar, pusing, lesu, ruam, tak bersemangat, tidak nafsu makan, mual dan muntah (Pelczar and Chan, 1988). Penyakit ini biasanya parah dan bila pengobatan tidak segera diberikan, penyakit ini akan berlangsung selama beberapa minggu dan penderita dapat meninggal. Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk menguji kandungan bahan aktif pada tanaman atau bahan alam untuk menghambat pertumbuhan suatu bakteri, Namun penelitian yang lebih memfokuskan pada senyawa aktif apakah yang terkandung di dalam daun senggani yang efektif mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan *S. typhi* belum banyak.

Dalam penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi n-heksan:kloroform:asam asetat (7:2:2) dari daun Senggani terhadap pertumbuhan bakteri *S.typhi*, serta mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam daun Senggani yang mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *S.typhi*. Proses pemisahan dilakukan dengan kromatografi kolom dengan harapan agar diperoleh fraksi yang lebih murni dan diharapkan dapat meningkatkan daya hambatnya. Pengujian aktivitas antimikroba bisa dilakukan menggunakan uji zona hambat atau uji difusi agar (*well diffusion method*). Penentuan golongan senyawa kimia dalam ekstrak kasar dilakukan secara kualitatif untuk senyawa tanin, flavonoid dan saponin. Sedangkan untuk penentuan golongan senyawa kimia hasil kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan pewarnaan untuk senyawa tanin dan flavonoid.

METODOLOGI EKSPERIMEN

a. Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Sampel yang digunakan adalah daun Senggani (*Melastoma candidum* D.Don) yang diambil dari Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP₂TO₂T) Tawangmangu. Preparasi sampel dan ekstraksi dengan menggunakan kloroform yang dipartisi dengan metanol seperti yang dilakukan oleh (Estu Retnaningtyas N dan Sri Mulyani, (2009).

b. Ekstraksi langsung dengan metanol

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 (slury) untuk selanjutnya disebut dengan ekstrak daun Senggani. Proses maserasi, penyaringan, dan evaporasi dilakukan sebanyak 2 kali ulangan.

c. Pemisahan dan Penentuan Golongan Senyawa Aktif Daun Senggani

Pemisahan untuk mendapatkan profil kandungan senyawa kimianya dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, KLT, (Stahl, 1985). Ekstrak daun senggani dilarutkan dalam pelarut kemudian ditotolkan pada lempeng KLT *silica gel* 60 PF₂₅₆ No. 1.07749.1000 menggunakan pipa kapiler. Pengembangan dilakukan dalam bejana pengembang dengan jarak pengembangan 8-9 cm dan menggunakan fase gerak yang sesuai. Hasilnya dideteksi dengan sinar tampak, dan sinar UV serta disemprot dengan pewarna untuk deteksi senyawa golongan flavonoid atau tannin seperti FeCl₃ atau Al Cl₃.



Untuk menyediakan senyawa-senyawa dalam ekstrak metanol yang profilnya ditunjukkan dengan KLT dilakukan dengan kromatografi kolom dengan menggunakan fase gerak n-heksan:kloroform:Asam Asetat (7:2:2). Kolom yang digunakan berukuran panjang 60 cm dan berdiameter 2cm. Bubur silika dimasukkan ke dalam kolom kemudian direndam dengan pelarut untuk fase gerak selama satu malam. Slury ekstrak metanol sebanyak 3 g dilarutkan dalam 5 ml larutan fase gerak kemudian dimasukkan ke dalam kolom prdinding, selanjutnya dielusi dengan 1 L fase gerak. Eluen dikumpulkan tiap 7 ml dalam botol gelas sambil mengontrol kandungannya dengan KLT. Golongan senyawa dideteksi di bawah sinar lampu UV dan sinar tampak serta diwarnai sesuai dengan masing-masing golongan.

d. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Pembuatan Kurva Standar

Biakan murni *Salmonella typhi* 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

Kultur sel semalam yang telah diencerkan hingga mencapai konsentrasi 1×10^{-6} CFU/mL diambil sebanyak 4 ml kemudian disuspensikan ke dalam 100 ml MHA dalam kondisi aseptis. Medium MHA berisi kultur tersebut selanjutnya dituang ke dalam cawan petri masing-masing diisi 10 ml dalam kondisi aseptis kemudian didinginkan. Setelah media MHA dingin kemudian dibuat sumuran dan sebanyak 25 μ L ekstrak Senggani dimasukkan untuk tiap sumuran lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi ekstrak Senggani yang digunakan adalah 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90% dan 100% (berat/volum). Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan ada tidaknya zona hambat kemudian diukur diameter zona hambat yang berupa zona bening di sekeliling sumuran dikurangi diameter lubang sumuran. Pengukuran dilakukan 3 kali. Sebagai kontrol negatif digunakan metanol, dan CMC, sedangkan kontrol positif digunakan amoksisilin 0,1% (b/v). Cara yang sama dilakukan untuk uji daya hambat fraksi aktif hasil kromatografi kolom ekstrak metanol daun Senggani.

e. Identifikasi senyawa

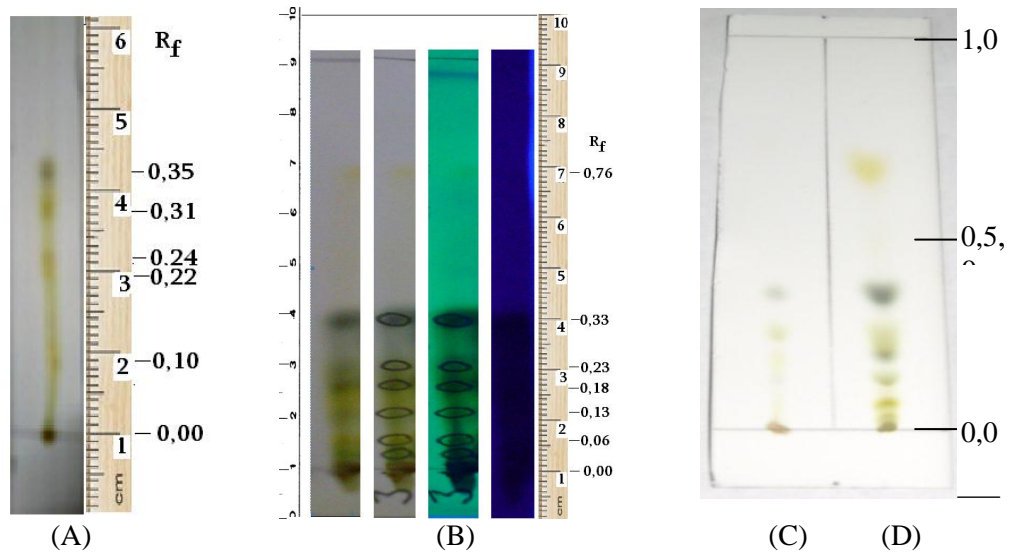
Uji flavonoid, uji tanin/polifenol, dan uji saponin dilakukan mengacu pada metode yang dirujuk oleh Harborne (1987).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 500 g serbuk daun senggani setelah diekstraksi dengan metode maserasi dihasilkan ekstrak kental (slury) sebanyak 54,26 g. Ekstrak kental ini sebagian dibuat seri konsentrasi untuk uji antibakteri dan sebagian lainnya



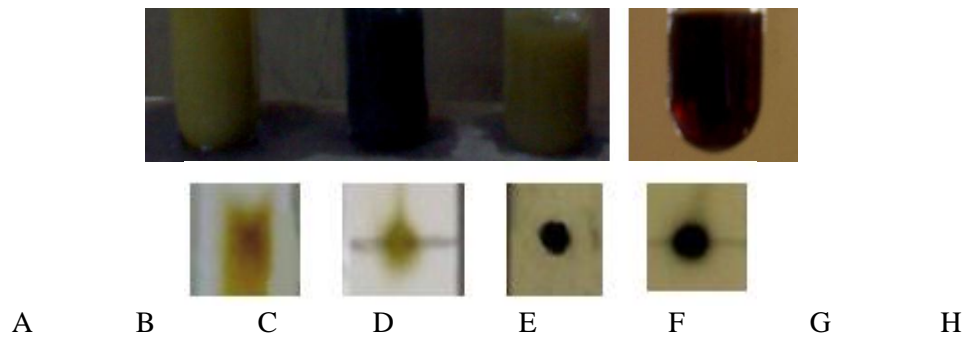
digunakan untuk kromatografi kolom. Dalam penelitian ini ada tiga macam ekstrak daun senggani. Profil KLT dari ketiga ekstrak tersebut, yaitu ekstrak kloroform, ekstrak metanol setelah dipartisi oleh kloroform, dan ekstrak metanol tanpa partisi ditunjukkan dalam gambar 1. KLT ekstrak metanol non partisi dengan fasa gerak n-heksana: kloroform: asam asetat (7: 2: 2) didapatkan noda pemisahan pada R_f 0,35; R_f 0,31; R_f 0,24; R_f 0,22; R_f 0,1. Sedangkan dengan gerak CCl_4 : n-heksana : Etil Asetat = 77:15:8 (v/v/v) diperoleh jumlah noda pemisahan yang sama masing-masing dengan R_f 0,76; R_f 0,33; R_f 0,23; R_f 0,18; R_f 0,13; R_f 0,06.



Gambar 1. Kromatogram KLT Fase diam Silika Gel PF₂₅₄ (A) Ekstrak metanol yang tidak dipartisi, fase gerak n-heksana : kloroform : Asam Asetat = 7:2:2 (v/v/v), deteksi ainar tampak; (B) Ekstrak metanol yang tidak dipartisi, fase gerak CCl_4 : n-heksana : Etil Asetat = 77:15:8 (v/v/v), 1 dan 2 didkteksi dengan sinar tampak, 3 dideteksi dengan UV 254 nm, dan 4 dideteksi pada 366 nm (C) Ekstrak metanol setelah dipartisi dengan, kloroform, fase gerak CCl_4 : n-heksana : Etil Asetat = 77:15:8 (v/v/v), deteksi ainar tampak; dan (D) Ekstrak kloroform, fase gerak CCl_4 : n-heksana : Etil Asetat = 77:15:8 (v/v/v), deteksi ainar tampak.

Dari kromatogram KLT dalam gambar 1 tampak bahwa senyawa yang ada di dalam ketiga macam ekstrak adalah sama, hanya saja kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol (gambar 1C) tinggal sedikit karena sudah terekstrak ke dalam kloroform (gambar 1D). Berdasarkan uji flavonoid, tanin/polifenol dan saponin yang dirujuk oleh Harborne (1987) tampak bahwa ekstrak metanol yang tidak dipartisi dari daun senggani menunjukkan uji positif adanya tanin (Gambar 2A-C) dan flavonoid (Gambar 2D), sedangkan untuk uji saponin menghasilkan hasil yang negatif. Hasil uji dipertegas dengan membandingkannya dengan senyawa rutin sebagai standar golongan flavonoid dan quinine sebagai senyawa tanin. Ekstrak metanol non partisi, rutin, dan quinine

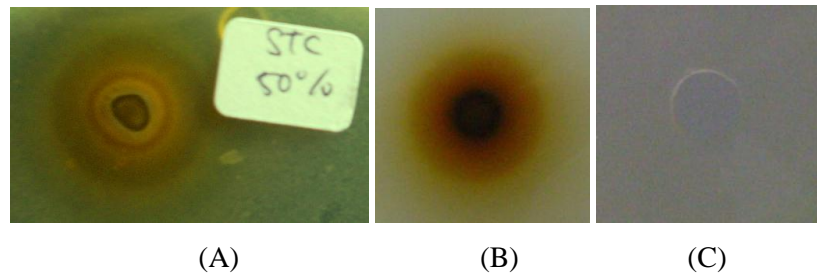
masing-masing ditotolkan di layer silika gel PF 254, kemudian disemprot dengan larutan $AlCl_3$ untuk senyawa flavonoid dan dengan larutan $FeCl_3$ untuk senyawa tanin. Ekstrak metanol non partisi yang disemprot dengan $AlCl_3$ menunjukkan warna kemerahan (Gambar 2F) mirip dengan standar flavonoid, rutin, (Gambar 2E), sedangkan yang disemprot dengan $FeCl_3$ menunjukkan warna hijau kehitaman (Gambar 2H) mirip dengan senyawa standar tanin, quinine, (Gambar 2G). Ini berarti ekstrak daun senggani mengandung golongan senyawa tanin dan flavonoid.



Gambar 2. Test warna untuk uji flavonoid dan tanin/polifenol terhadap ekstrak metanol non partisi dari daun senggani. A-C adalah hasil uji positif adanya tanin. Setelah filtrat yang diperoleh dari suspensi ekstrak metanol non partisi dalam air panas ditambah 5 tetes $NaCl$ 5% kemudian dibagi menjadi 3 bagian: bagian A sebagai blanko, bagian B setelah ditambah 3 tetes $FeCl_3$ 1% (b/v) terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin terhidrolisis, sedangkan bagian C setelah ditambah larutan gelatin terbentuk endapan menunjukkan adanya tanin. D adalah warna merah ke violet hasil uji positif adanya flavonoid. E dan F adalah senyawa standar flavonoid, rutin, dan ekstrak metanol non partisi pada silika gel setelah disemprot dengan $AlCl_3$ 1% (b/v). G dan H adalah senyawa standar tanin, quinine, dan ekstrak metanol non partisi pada silika gel setelah disemprot dengan $FeCl_3$ 1% (b/v).

Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak kloroform tidak menunjukkan aktifitas anti bakteri. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol setelah dipartisi dengan kloroform menunjukkan zona hambatan di atas 20 mm dengan variasi konsentrasi dari 20% sampai 100% (berat/volum). Untuk ekstrak metanol yang tidak dipartisi menunjukkan zona hambatan 20 mm atau lebih untuk konsentrasi 40% atau lebih. Gambar hasil uji zona hambat untuk kedua macam ekstrak metanol daun senggani ditampilkan dalam gambar 3. Hasil pengukuran zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. Typhi* pada berbagai variasi konsentrasi untuk ekstrak metanol setelah dipartisi dengan kloroform dan ekstrak metanol non partisi masing-masing disajikan dalam tabel 1 dan 2.





Gambar 3 Hasil zona hambat disekitar ekstrak daun senggani dengan bakteri uji *S. Typhi*. (A) ekstrak metanol setelah dipartisi dengan kloroform dengan konsentrasi 50 % (b/v) dalam CMC 0,1 % (b/v). (B) ekstrak metanol non partisi dengan konsentrasi 30 % (b/v) dalam CMC 0,1 % (b/v). (C) Kontrol negatif menggunakan pelarut CMC 0,1 % (b/v).

Jika dilihat data pada tabel 1 dan 2 cukup berbeda karena jumlah ekstrak daun senggani yang dimasukkan ke lubang sumuran untuk data dalam tabel 1 sebesar **30 uL**, sedangkan untuk tabel 2 sebesar **25 ul**. Namun jika diperhatikan jumlah ekstrak yang digunakan menunjukkan secara keseluruhan ekstrak metanol setelah dipartisi dengan kloroform meunjukkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol non partisi. Hal ini menjadikan dugaan bahwa kemungkinan senyawa yang terlarut dalam kloroform ada yang beraksi antagonis sehingga aktivitas senyawa yang tersisa yang terekstrak oleh metanol setelah dipartisi oleh kloroform menjadi lebih efektif. Dari kedua tabel di atas tampak bahwa dari variasi konsentrasi ekstrak yang ada konsentrasi 60 % dari ekstrak daun senggani dalam metanol non partisi yang memberikan hambatan terbesar yaitu $21,51 \pm 0,20$ mm , sedangkan dalam ekstrak metanol setelah dipartisi dengan kloroform hambatan terbesar ditunjukkan pada konsentrasi 30 % yaitu $29,163 \pm 0,792$ mm. Meskipun data zona hambatan hasil sangat fluktuatif namun ada kecenderungan semakin besar konsentrasi ekstrak semakin besar daya hambatnya..

Tabel 1. Aktivitas Antibakteri ekstrak metanol setelah dipartisi dengan kloroform dari daun senggani terhadap bakteri *S. Typhi* (jumlah ekstrak yang dimasukkan ke sumuran = 30 ul)

NO	KONSEN-TRASI (% b/v)	JML EKS-TRAK (ug)	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)	NO	KONSEN-TRASI (% b/v)	JML EKS-TRAK (ug)	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)
1	20	6	$23,096 \pm 0,892$	6	70	21	$25,18 \pm 2,780$
2	30	9	$29,163 \pm 0,792$	7	80	24	$26,713 \pm 1,643$
3	40	12	$25,646 \pm 2,246$	8	90	27	$24,48 \pm 1,869$
4	50	15	$29,016 \pm 1,012$	9	100	30	$28,65 \pm 0,819$
5	60	18	$24,946 \pm 1,578$		DMSO		0,0
	Amoksisilin	0.03	$26,721 \pm 0,092$		CMC		0,0



NO	KONSEN- TRASI (% b/v)	JML EKS- TRAK (ug)	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)	NO	KONSEN- TRASI (% b/v)	JML EKS- TRAK (ug)	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)
	Metanol		0,0		Aquades		0,0

Tabel 1. Aktivitas Antibakteri ekstrak metanol non partisi daun senggani terhadap bakteri *Salmonella typhi* (jumlah ekstrak yang dimasukkan ke sumuran = 25 ul)

NO	KONSEN- TRASI (% b/v)	JML EKS- TRAK (ug)	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)	NO	KONSEN- TRASI (% b/v)	JML EKS- TRAK (ug)	DIAMETER ZONA HAMBAT (mm)
1	10	2.5	11,98 ± 0,12	6	60	15.0	21,51 ± 0,20
2	20	5.0	14,73 ± 0,50	7	70	17.5	20,31 ± 0,24
3	30	7.5	16,49 ± 0,48	8	80	20.0	20,85 ± 0,18
4	40	10.0	21,29 ± 0,12	9	90	22.5	20,55 ± 0,23
5	50	12.5	19,98 ± 1,05	10	100	25.0	21,44 ± 0,02
	Amoksisilin (0,1)	0.025	19,48 ± 0,29		CMC (0,1)		0,0
	Metanol		0,0		Aquades		0,0

Berbagai konsentrasi senyawa antimikroba dari tanaman Senggani secara umum mampu menghambat laju pertumbuhan *S. typhi* gram negatif yang peka. Bahkan pada konsentrasi terkecil sekalipun. Ini membuktikan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman senggani berpotensi sebagai bahan antimikroba serta merupakan suatu bakterisidal. Penghambatan ini bisa terjadi dalam beberapa alternatif dan hal ini perlu dikaji lebih lanjut pada tahap mana fraksi aktif ini menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Beberapa dugaan bisa diasumsikan.

Pertama, hal ini bisa terjadi karena kemampuan substansinya dalam menghambat laju pertumbuhan mikroba pada konsentrasi yang rendah, sekitar 20 % sampai 30 % mempunyai aktivitas spektrum yang luas dalam menghambat mikroba (Schlegel, Hans G. 1994). Kedua, penghambatan pertumbuhan ini dapat dimungkinkan karena adanya penghambatan terhadap sistesis dinding sel. Dinding sel ini mampu mempertahankan bentuk mikroba dan pelindung sel bakteri, yang mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi (Jawetz et al. 2005). Senyawa antimikroba yang menyerang bakteri akan merusak dinding selnya atau mencegah sistesisnya, sehingga akan menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap tekanan osmotik atau dikenal dengan istilah trauma. Dinding sel yang rusak akan menimbulkan plasmolisis. Jika protoplast ini diletakkan pada lingkungan dengan tekanan osmotik tertentu, mereka akan mengambil cairan dengan cepat, mengembang, dan pecah. Membran sitoplasma pada bakteri berperan sebagai

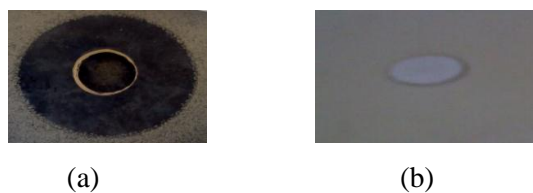


barier permeabilitas selektif, membawa fungsi transpor aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas ini dirusak maka makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian terjadi sel lisis bahkan terjadi kematian. Membran sitoplasma dapat dengan mudah dikacaukan oleh agen antimikroba yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri patogen ini (Jawetz et al. 2005).

Untuk mengetahui bagaimana mekanisme senyawa flavonoid dalam ekstrak senggani dalam menghambat pertumbuhan *S. Typhi* masih perlu penelitian lanjut. Meskipun mekanisme kerja obat antimikroba tidak sepenuhnya dimengerti. Namun mekanisme aksi ini dapat dikelompokkan dalam empat hal utama: (a) Penghambatan terhadap sintesis dinding sel, (b) Penghambatan terhadap fungsi membran sel, (c) Penghambatan terhadap sintesis protein, dan (d) Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat (Walsh, 2003).

Untuk memisahkan dan mengetahui senyawa aktif dalam daun senggani, dilakukan kromatografi kolom terhadap ekstrak metanol non partisi dengan menggunakan fase gerak n-heksan : kloroform : Asam Asetat=7 : 2 : 2(v/v/v). Dari hasil kromatografi kolom dengan panjang kolom 20 cm, diameter 2 cm dan 1 L fase gerak diperoleh beberapa fraksi. Fraksi pertama berupa larutan tidak berwarna yang merupakan pelarut/fase gerak, fraksi kedua disebut Fraksi A (28 ml) berwarna coklat kehitaman, fraksi ketiga (49 ml) berwarna coklat kekuningan adalah transisi fraksi A dan B, fraksi keempat disebut fraksi B (119 ml) berwarna kuning, dan fraksi sisa tidak berwarna. Dari fraksi-fraksi tersebut hanya fraksi A dan B yang memberikan noda setelah dilakukan KLT dengan pengamatan dibawah sinar tampak dan sinar UV 254 nm. KLT fraksi A 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 B 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.

Hasil uji anti bakteri fraksi A dan B terhadap bakteri uji *S. typhi* menunjukkan bahwa hanya fraksi A yang positif menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. typhi*, sedangkan fraksi B tidak (Gambar 4). Uji antibakteri dilakukan dengan cara yang sama seperti pada uji antibakteri ekstrak metanol daun senggani. Konsentrasi fraksi yang digunakan adalah 20 %. Hasil uji golongan untuk fraksi A menunjukkan bahwa senyawa aktif yang mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *S. typhi* adalah golongan flavonoid. Diameter zona hambat fraksi A pada konsentrasi 20% (b/v) yaitu $15,40 \pm 0,42$ mm. Ukuran ini lebih besar bila dibandingkan dengan fraksi metanol non partisi yang hanya memberikan hambaran sebesar $14,73 \pm 0,50$ mm. \



Gambar 4. Hasil uji antibakteri fraksi n-heksan : kloroform : Asam Asetat=7 : 2 : 2(v/v/v). Dengan bakteri uji *S. Typhi*. (a) fraksi A (b) fraksi B



Flavonoid selama ini dikenal sebagai suatu antioksidan kuat berdasarkan cara kerjanya menangkap suatu radikal bebas. Kemampuan flavonoid dalam menangkap radikal bebas disebabkan karena adanya gugus hidroksi pada molekulnya. Gugus hidroksil itulah yang mempunyai aktivitas sebagai penangkap radikal bebas. Beberapa mekanisme kerja senyawa flavonoid sudah terungkap diantaranya beraksi dalam inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel, induksi apoptosis dan diferensiasi, inhibisi angiogenesis, serta pembalikan resistensi multi-obat atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme tersebut. Namun begitu dalam penelitian ini belum bisa mengungkap bagaimana mekanisme kerja senyawa flavonoid dari fraksi n-heksan : kloroform : Asam Asetat=7 : 2 : 2(v/v/v). Untuk ini masih diperlukan kajian laboratorium yang lebih jauh.

KESIMPULAN

- Ekstrak metanol setelah dipartisi dengan kloroform daun senggani memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan diameter zona hambat terbesar $29,163 \pm 0,792$ mm pada konsentrasi 30 % (b/v).
- Ekstrak metanol non partisi daun senggani memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 0,6 g/mL yaitu $21,51 \pm 0,20$ mm.
- Dari hasil penapisan fitokimia diketahui bahwa ekstrak metanol non partisi dari daun senggani mengandung golongan senyawa tanin dan flavonoid.
- Senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak metanol daun senggani dapat dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan pelarut n-heksan : kloroform : Asam Asetat=7 : 2 : 2(v/v/v) sebagai Fraksi A. Fraksi A memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat $15,40 \pm 0,42$ mm pada konsentrasi 20 % dan merupakan golongan senyawa flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- Jaganath, I. B. dan Ng, L. T. 2000. *Melastoma malabathricum, in Herbs: The Green Pharmacy of Malaysia*. Kuala Lumpur: Vinpress. 58-59
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro. Bandung : Penerbit ITB
- Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. 2005. *Microbiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Diterjemahkan oleh Huriati dan Hartanto. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Schlegel, H.G., 1994. *Mikrobiologi Umum*, Edisi keenam. Diterjemahkan oleh Juyon. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Pelczar, Michael J. and E.C.S Chan et.al .1988. *Elements Of Microbiology*. Jakarta : Universitas Indonesia Press
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira. ITB, Bandung
- Walsh, C. 2003. *Antibiotics: action, origin, resistance*. Washington DC: ASM Press.

