

**PENELUSURAN POTENSI FRAKSI *n*-HEKSAN DAN ETIL ASETAT DARI
EKSTRAK METANOL DAUN GUGUR KETAPANG
(*Terminalia catappa* L.) SEBAGAI ANTIDIARE**

Maulita Cut Nuria^{1*} ; Zumrotul Chabibah¹ ; Syahar Banu¹ ; Risha Fillah Fithria¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

*Email : cut.nuria@yahoo.com

ABSTRAK

Daun ketapang (Terminalia catappa L.). secara empiris digunakan sebagai obat diare. Bakteri yang dapat menyebabkan diare adalah E. coli dan S. aureus. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak metanol daun ketapang memiliki aktivitas antibakteri, serta daun gugur ketapang memiliki aktivitas antibakteri lebih besar daripada daun hijau. Daun ketapang mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk menelusuri potensi fraksi n-heksan dan etil asetat dari ekstrak metanol daun gugur ketapang segar dan kering sebagai antidiare, serta mengidentifikasi senyawa aktif dalam fraksi tersebut.

Bahan yang digunakan adalah daun gugur segar dan kering ketapang yang disari dengan pelarut metanol menggunakan metode maserasi dan difraksinasi secara bertingkat dengan pelarut n-heksan dan etil asetat (EA). Kedua fraksi tersebut kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap E. coli dan S. aureus menggunakan metode difusi agar, dengan seri konsentrasi 1000; 500; 250; 125; dan 62,5 µg/disk. Identifikasi senyawa aktif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Kedua fraksi uji mempunyai aktivitas antibakteri terhadap E. coli dan S. aureus mulai konsentrasi 62,5 µg/disk. Hasil KLT fraksi n-heksan menunjukkan adanya senyawa terpenoid sedangkan fraksi EA mengandung senyawa flavonoid.

kata kunci : *Fraksi n-heksan dan etil asetat dari ekstrak metanol daun gugur ketapang, E. coli, S. aureus, terpenoid, flavonoid.*

1. PENDAHULUAN

Diare merupakan salah satu penyebab utama angka kesakitan dan kematian yang cukup tinggi di negara-negara berkembang. Data beberapa rumah sakit di Indonesia menunjukkan diare akut karena infeksi berada pada peringkat pertama sampai keempat bagi pasien dewasa yang datang berobat. Penyebab utama disentri di Indonesia adalah *Shigella*, *Salmonella* dan *Escherichia coli*. Di negara maju dengan kondisi kesehatan dan ekonomi masyarakat yang lebih baik insiden diare infeksi tetap tinggi dan masih menjadi masalah kesehatan. Di negara Inggris, 1 dari 5 orang menderita diare infeksi setiap tahunnya dan 1 dari 6 orang pasien yang berobat ke praktek umum menderita diare infeksi. Tingginya kejadian diare di negara Barat ini disebabkan bakteri *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) (Zein dkk., 2004).

Meningkatnya penggunaan obat tradisional dan penelitian terhadap kandungan kimia tanaman, membuat obat tradisional semakin diketahui fungsinya dalam pengobatan. Obat tradisional tersebut tidak hanya digunakan dalam fase pengobatan saja, melainkan juga

digunakan dalam fase preventif, promotif dan rehabilitatif. Obat tradisional banyak digunakan karena keberadaannya yang mudah didapat, ekonomis, dan memiliki efek samping relatif rendah serta adanya kandungan senyawa aktif yang memiliki efek saling mendukung secara sinergis. Namun selain keuntungan yang dimilikinya, bahan alam juga memiliki beberapa kelemahan yaitu efek farmakologisnya yang lemah, bahan baku belum terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Katno dan Pramono, 2008).

Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah ketapang (*Terminalia catappa* L.). Ketapang secara empiris digunakan sebagai obat diare, penyakit kulit, sariawan, dan lain-lain (Anonim, 1986^a). Babayi dkk., (2004) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun ketapang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Suksmawan dkk., (2004) melaporkan ekstrak etanol dan ekstrak air dari daun gugur dan daun hijau ketapang memiliki aktivitas terhadap bakteri, namun aktivitasnya lebih baik pada daun gugur dibandingkan daun hijau. Dewi dkk., (2004) juga telah melakukan penapisan fitokimia daun ketapang yang menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, tanin, dan terpenoid.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi fraksi n-heksan dan etil asetat dari ekstrak metanol daun gugur ketapang segar maupun kering terhadap bakteri penyebab diare yakni *S. aureus* dan *E. coli* dan pengujian dilakukan secara in vitro. Tujuan akhir penelitian ini adalah menentukan potensi kedua fraksi tersebut sebagai anti diare.

2. METODE PENELITIAN

2.a. Bahan yang digunakan

1. Bahan penelitian : daun gugur ketapang (*Terminalia catappa* L.) segar maupun yang telah dikeringkan, diperoleh dari Taman Wisata Pendidikan Biologi Universitas Negeri Semarang yang dipanen pada pagi dan sore.
2. Bahan penyari : metanol (kualitas teknis)
3. Bahan untuk fraksinasi dengan metode partisi cair-cair : n-heksan, etil asetat, akuades dan metanol.
4. Bahan untuk uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar :
 - a) Bakteri : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922
 - b) Media : *Nutrient broth* (NB) (Merck), *Nutrient agar* (NA) (Oxoid)
 - c) Kontrol positif : kloramfenikol 30 µg/disk (Oxoid)
 - d) Kontrol negatif : *Dimetilsulfoxide* (DMSO) (Merck)
5. Bahan untuk uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yakni identifikasi terpenoid dan flavonoid adalah :
 - a) Fase diam : silika gel GF₂₅₄ (Merck) untuk identifikasi terpenoid dan selulosa (Merck) untuk identifikasi flavonoid.
 - b) Fase gerak : toluen-etil asetat (9:1) untuk identifikasi terpenoid dan kloroform-aseton-asam formiat (60:15:5) untuk identifikasi flavonoid (kualitas pro analisis)
 - c) Penampak bercak : anisaldehyd-asam sulfat untuk identifikasi terpenoid dan uap amonia untuk identifikasi flavonoid
 - d) Baku pembanding terpenoid : terpineol (Merck) untuk identifikasi terpenoid dan kuersetin (Sigma) untuk identifikasi flavonoid.

2.b. Alat yang Digunakan

Alat yang digunakan adalah blender (Maspion), timbangan kilogram (Five Goats), timbangan gram (ACII), moisture balance (Ohaus MB 23), *rotary evaporator* (Heidolph tipe : Hei-VAP), viskosimeter (Iscotester), inkubator (Binder), autoklaf (All American), oven (Memmert), *Laminar Air Flow* (LAF) (LAF 105/1 18), timbangan analitik (OHAUS AR2140 dengan kepekaan 0,0001 gram), bejana kromatografi, lampu UV_{254 nm}, UV_{366 nm}.

2.c. Jalannya Penelitian

2.c.1. Identifikasi Daun Ketapang

Identifikasi daun ketapang dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro Semarang. Identifikasi menggunakan daun hijau yang masih menempel pada pohon ketapang. Hal ini dimaksudkan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan yang akan diidentifikasi.

2.c.2. Pengumpulan dan Pengerinan Daun Gugur ketapang

Daun yang digunakan dalam penelitian ini merupakan daun gugur berwarna merah. Daun kemudian disortasi, dicuci dengan air bersih mengalir untuk menghilangkan pengotor yang menempel. Selanjutnya daun ditiriskan, dan diangin-anginkan selama 30 menit. Pengerinan daun ketapang dilakukan dengan oven pada suhu 50°C selama 2 hari. Daun yang sudah kering dibuat serbuk dengan cara diblender, kemudian diayak dengan menggunakan ayakan berukuran 50 mesh serta diukur kadar airnya.

2.c.3. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Gugur Ketapang

Rajangan daun gugur segar 2800 g dimaserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 28 L, sedangkan serbuk daun gugur kering sebanyak 1070 g dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 10,7 L. Proses maserasi terdiri dari dua tahap. Maserasi tahap pertama menggunakan 60 bagian pelarut metanol untuk rajangan daun gugur segar yaitu 16,8 L dan untuk serbuk daun gugur kering yaitu 6,42 L. Pada tahap kedua digunakan 40 bagian pelarut metanol untuk rajangan daun gugur segar yaitu 11,2 L dan untuk serbuk daun gugur kering 4,28 L. Maserat yang diperoleh kemudian dienaptungkan dan endapannya dibuang, sedangkan filtratnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental, kemudian diukur viskositas dan rendemennya.

2.c.4. Pembuatan Fraksi Uji dari Ekstrak Metanol Daun Gugur Ketapang

Ekstrak kental daun gugur ketapang segar sebanyak 225 g dilarutkan dalam 1100 mL air dan 127 g ekstrak kental daun gugur kering ketapang dilarutkan dalam 600 mL air sampai seluruh ekstrak larut. Ekstrak kental dari daun gugur segar dapat sepenuhnya larut dalam air, sedangkan ekstrak kental dari daun gugur kering tidak sepenuhnya dapat larut, maka ditambahkan 150 mL campuran air : metanol (9 : 1). Fase air-metanol selanjutnya difraksinasi secara bertingkat dengan metode partisi cair-cair. Proses ini dilakukan menggunakan corong pisah dengan pelarut *n*-heksan terlebih dahulu, kemudian dilanjutkan dengan memfraksinasi fase air dengan pelarut etil asetat. Proses ini dilakukan hingga fase yang diinginkan (baik *n*-heksan maupun etil asetat) menjadi jernih (4-5 kali penambahan pelarut), sehingga komponen senyawa aktif yang dikehendaki dapat tersari seluruhnya.

Jumlah pelarut yang digunakan untuk fraksinasi sebanding dengan volume air yang ditambahkan ke dalam ekstrak metanol (perbandingan 1 : 1). Ketiga fraksi tersebut kemudian ditampung dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi kental. Fraksi-fraksi tersebut kemudian ditimbang dan diuji aktivitas

antibakterinya.

2.c.5. Pembuatan Fraksi Uji

Fraksi uji dibuat larutan stok dengan konsentrasi 100 mg/mL dengan cara melarutkan fraksi menggunakan pelarut DMSO hingga homogen. Pengenceran dibuat bertingkat dengan empat seri konsentrasi (50 ; 25 ; 12,5 ; dan 6,25 mg/mL). Konsentrasi fraksi uji kemudian dikonversi dalam satuan $\mu\text{g}/\text{disk}$ disesuaikan dengan kontrol positifnya.

2.c.6. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji ini dilakukan dengan metode difusi menggunakan teknik pour plate. Suspensi masing-masing bakteri uji sebanyak 200 μL dicampur ke dalam 20 mL media NA (dalam keadaan hangat), kemudian dituang ke dalam cawan petri lalu ditunggu hingga media memadat. Masing-masing seri konsentrasi fraksi uji diambil sebanyak 10 μL lalu ditetaskan di atas paperdisk. Paperdisk yang mengandung fraksi uji diletakkan di atas permukaan media agar, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Anonim, 1993). Kontrol positif (kloramfenikol 30 $\mu\text{g}/\text{disk}$) dan kontrol negatif (paperdisk yang telah ditetesi pelarut DMSO) juga diaplikasikan pada media agar, inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Parameter adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling paperdisk yang kemudian diamati, diukur, dan dihitung rata-ratanya. Zona jernih tersebut dinyatakan sebagai DDH (diameter daerah hambat).

2.c.7. Identifikasi Senyawa Aktif dalam Fraksi Uji dengan Metode KLT

Bejana kromatografi sebelumnya dijenuhi dahulu dengan fase geraknya. Fraksi uji kemudian dilarutkan dalam metanol dan ditotolkan pada lempeng silika gel GF₂₅₄, setelah totolan mengering, lempeng KLT kemudian dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah jenuh dengan fase gerak, sehingga terjadi proses elusi. Lempeng KLT yang telah dielusi dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Hasilnya diamati di bawah lampu UV_{254 nm} dan UV_{366 nm}, lalu dideteksi warna bercak yang dihasilkan. Kromatogram yang dihasilkan diamati berdasarkan warna yang terbentuk pada bercak dan kesesuaian bercak senyawa uji dengan bercak senyawa pembanding. Bercak yang teridentifikasi dihitung nilai Rf-nya.

2.d. Analisis Data

Analisis data untuk hasil uji aktivitas antibakteri adalah bila fraksi uji menghasilkan nilai DDH yang lebih dari 6 mm, maka fraksi uji dikatakan memiliki aktivitas antibakteri. Analisis data untuk identifikasi senyawa aktif terpenoid dilakukan dengan melihat bercak warna ungu setelah disemprot anisaldehyd-asam sulfat dan warna kuning setelah diuapi amoniak untuk senyawa flavonoid. Bercak senyawa uji yang terbentuk kemudian dibandingkan dengan bercak senyawa standar, lalu dilakukan perhitungan nilai Rf pada masing-masing bercak (Sastrohamidjojo, 1985).

3. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

3.a. Identifikasi Daun

Tujuan identifikasi adalah untuk mengetahui identitas dan memastikan daun ketapang (*Terminalia catappa* L.). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa daun yang digunakan benar-benar daun ketapang.

3.b. Pengumpulan dan Pengeringan Daun Gugur Ketapang

Hasil perhitungan kadar air terhadap daun gugur kering ketapang adalah sebesar 2%. Hal ini sesuai dengan persyaratan simplisia yang baik bahwa kadar air tidak lebih dari 10%.

3.c. Ekstraksi Daun Gugur Ketapang

Ekstrak kental yang diperoleh dari daun gugur segar adalah 301,24 g dengan rendemen sebesar 10,76 %^b/_b, sedangkan yang berasal dari daun gugur kering menghasilkan ekstrak kental sebanyak 167,36 g dengan rendemen 15,64 %^b/_b. Viskositas ekstrak daun gugur segar dan kering ketapang masing-masing sebesar 40 dpa's dan 70 dpa's yang berarti daun gugur kering lebih kental dari pada daun gugur segar. Perbedaan viskositas tersebut disebabkan pada daun gugur kering memiliki ukuran partikel yang lebih kecil akibat proses pengubahan bentuk menjadi serbuk. Oleh karena itu cairan penyari mungkin lebih banyak menarik senyawa aktif.

3.d. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Gugur Ketapang

Ekstrak difraksinasi dengan teknik partisi cair-cair. Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan. Pemisahan secara partisi cair-cair harus memiliki perbedaan kelarutan antara pelarut dan zat terlarut serta kedua pelarut yang digunakan tidak saling bercampur.

Hasil proses fraksinasi bertingkat dari kedua fraksi uji disajikan pada tabel I berikut ini :

Tabel I. Hasil Fraksinasi dari Ekstrak Metanol Daun Gugur Ketapang

Fraksi uji	Jenis daun gugur	Organoleptis	Volume yang dihasilkan (mL)	Bobot fraksi kental (gram)
<i>n</i> -heksan	Segar	Warna hijau	2500	3,12
	Kering	Warna hijau	1700	0,50
Etil asetat	Segar	Warna coklat	4000	21,79
	Kering	Warna coklat	1900	3,48

3.d. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri pada kontrol positif maupun negatif memberikan hasil bahwa kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini ditandai dengan tidak adanya zona hambatan disekitar *paperdisk*, sedangkan kontrol positif (kloramfenikol) mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Antibiotik kloramfenikol 30 µg/*disk* menghasilkan DDH sebesar 20,00-23,60 mm. Hasil pengamatan terhadap kedua fraksi uji menunjukkan bahwa fraksi uji memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Hal tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan di sekeliling *paperdisk*.

Penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 62,5-1000 µg/*disk*, fraksi uji *n*-heksan mampu memberikan nilai DDH pada *S. aureus* dan *E. coli* berkisar antara 6,88-20,65 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi uji *n*-heksan yang berasal dari daun gugur segar dan kering ternyata memberikan nilai DDH yang hampir sama terhadap bakteri uji, yakni fraksi uji *n*-heksan daun gugur segar memberikan nilai DDH yang lebih besar dari daun gugur kering terhadap bakteri uji. Perbedaan ini kemungkinan diakibatkan oleh proses pengeringan yang menggunakan oven. Daun gugur kering bisa mengalami pengurangan jumlah komponen dan konsentrasi senyawa yang mudah menguap yang kemungkinan besar dapat ditarik oleh pelarut *n*-heksan. Bila dilihat dari nilai DDH maka aktivitas antibakteri fraksi uji tidak lebih baik dibandingkan kontrol positifnya. Namun karena DDH yang dihasilkan fraksi uji cukup besar maka hasil ini bisa dikembangkan lebih lanjut khususnya sebagai antidiare. Besarnya nilai DDH yang dihasilkan fraksi uji *n*-heksan dapat dilihat pada Tabel II.

Pada konsentrasi 125 $\mu\text{g/disk}$, fraksi uji etil asetat (EA) daun gugur segar aktif terhadap semua bakteri uji, namun pada daun gugur kering hanya aktif pada *S. aureus* tetapi tidak aktif terhadap *E. coli*. Pada konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/disk}$ fraksi EA yang berasal dari daun gugur segar maupun kering hanya dapat menghambat *S. aureus* namun tidak bisa menghambat *E. coli*. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* lebih tahan terhadap pengaruh fraksi EA dibandingkan dengan bakteri *S. aureus*.

Tabel II. Diameter Daerah Hambat (DDH) yang dihasilkan fraksi *n*-heksan terhadap bakteri uji, diameter *paperdisk* 6 mm.

Bakteri uji → Perlakuan ↓	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	Rata-rata DDH ± SEM (daun gugur segar)	Rata-rata DDH ± SEM (daun gugur kering)	Rata-rata DDH ± SEM (daun gugur segar)	Rata-rata DDH ± SEM (daun gugur kering)
Kloramfenikol 30 $\mu\text{g/disk}$	23,06 ± 0,19		20,00 ± 0,85	
Fraksi uji konsentrasi 1000 $\mu\text{g/disk}$	20,65 ± 0,44	20,60 ± 0,90	19,12 ± 0,63	18,93 ± 0,35
Fraksi uji konsentrasi 500 $\mu\text{g/disk}$	17,98 ± 0,04	17,30 ± 0,20	15,58 ± 0,39	14,84 ± 0,02
Fraksi uji konsentrasi 250 $\mu\text{g/disk}$	13,89 ± 0,35	13,67 ± 0,33	13,35 ± 0,28	13,25 ± 0,06
Fraksi uji konsentrasi 125 $\mu\text{g/disk}$	12,68 ± 0,21	12,22 ± 0,43	11,91 ± 0,55	11,91 ± 0,38
Fraksi uji konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/disk}$	12,24 ± 0,35	10,67 ± 0,15	9,68 ± 0,51	6,88 ± 0,39
DMSO	-	-	-	-

Perbedaan kepekaan diantara kedua bakteri uji dipengaruhi oleh perbedaan struktur membran sel bakteri, seperti jumlah peptidoglikan dan jumlah lipid, serta adanya enzim pendegradasi yang mampu memecah senyawa aktif yang ada dalam fraksi uji. *E. coli* mempunyai membran sel dengan kandungan lipid yang tinggi (11-22 %) dan struktur membran sel yang berlapis tiga (multilayer) yaitu lipoprotein, membran luar fosfolipid (lapisan dalam), dan lipopolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipid A yang bersifat non polar. Senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi uji memiliki sifat semipolar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat semipolar daripada lapisan lipid yang non polar. Hal ini yang menyebabkan senyawa tersebut lebih sulit untuk masuk ke dalam membran sel bakteri *E. coli*, sehingga bakteri ini lebih tahan terhadap pengaruh fraksi uji. Selain itu bakteri *E. coli* memiliki membran luar fosfolipid yang berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik, sehingga dapat mengurangi masuknya zat antibakteri ke dalam sel (Jawetz *et al.*, 2005). Mekanisme lainnya kemungkinan adalah *E. coli* mengaktifkan pompa efluks untuk

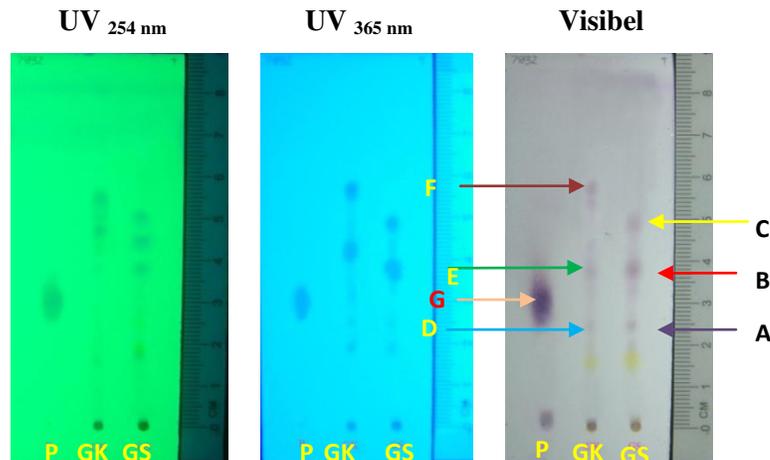
membuang keluar zat antibakteri yang ada di dalam sel (Alvarez *et al.*, 2008). Besarnya nilai DDH yang dihasilkan fraksi uji EA dapat dilihat pada Tabel III.

Tabel III. Diameter Daerah Hambat (DDH) yang dihasilkan fraksi etil asetat, kontrol positif, dan kontrol negatif terhadap bakteri uji, dengan diameter *paperdisk* 6 mm

Bakteri uji → Perlakuan ↓	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	Rata-rata DDH ± SEM (daun gugur segar)	Rata-rata DDH ± SEM (daun gugur kering)	Rata-rata DDH ± SEM (daun gugur segar)	Rata-rata DDH ± SEM (daun gugur kering)
Kloramfenikol 30 µg/disk	23,06 ± 0,07		20,00 ± 1,25	
Fraksi uji konsentrasi 1000 µg/disk	19,20 ± 0,04	19,12 ± 0,03	18,65 ± 0,05	18,26 ± 0,02
Fraksi uji konsentrasi 500 µg/disk	17,32 ± 0,19	17,20 ± 0,03	17,11 ± 0,33	17,07 ± 0,02
Fraksi uji konsentrasi 250 µg/disk	16,70 ± 0,09	16,46 ± 0,29	13,92 ± 0,07	13,28 ± 0,02
Fraksi uji konsentrasi 125 µg/disk	14,05 ± 0,01	12,68 ± 0,13	11,98 ± 0,13	-
Fraksi uji konsentrasi 62,5 µg/disk	8,64 ± 0,11	8,47 ± 0,19	-	-
DMSO	-	-	-	-

Fraksi *n*-heksan dapat menyari senyawa terpenoid yang diduga terkandung dalam daun gugur ketapang baik segar maupun kering. Pengamatan bercak di bawah sinar visibel menghasilkan tiga bercak berwarna ungu pada fraksi uji daun gugur segar (GS) dan daun gugur kering (GK), dimana warna bercak tersebut menyerupai warna bercak pembanding terpineol. Dapat disimpulkan bahwa dalam fraksi uji mengandung beberapa macam senyawa golongan terpenoid mudah menguap yang terdiri atas C5-C20. Oleh karena itu tahapan selanjutnya dapat dilakukan isolasi dan identifikasi secara spesifik untuk mengetahui jenis senyawa terpenoid. Kromatogram hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 1.

Fraksi uji tersebut tidak mengandung terpineol sebab nilai *Rf* pada fraksi uji baik GS maupun GK berbeda dengan *Rf* terpineol. Nilai *Rf* terpineol adalah 0,32, sedangkan bercak fraksi uji GS adalah A, B, dan C dengan nilai *Rf* berturut-turut 0,24; 0,39; dan 0,50. Fraksi uji GK menghasilkan bercak D, E, dan F dengan *Rf* masing-masing sebesar 0,24; 0,40 dan 0,58. Dapat disimpulkan ada 3 jenis terpenoid dalam tiap-tiap fraksi uji karena ada 3 nilai *Rf*.



Keterangan :

- Sampel : Fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun gugur ketapang
 Analisa : Terpenoid
 Fase Diam : Silika gel F₂₅₄ (Al - Sheet)
 Fase Gerak : Toluene : Etil Asetat (93:7)
 Pereaksi : Anisaldehyd Asam Sulfat
 Jarak Pengembangan : 8,5 cm
 P : Pembanding Terpeneol
 GK : Fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol daun gugur kering
 GS : Fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol daun gugur segar
 Warna spot terpenoid di visibel : violet
 R_f : A=0,24; B=0,39 ;C=0,50; D=0,24; E=0,40; F=0,58; G=0,32

Gambar 1. Kromatogram identifikasi senyawa golongan terpenoid dari fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun gugur ketapang segar (GS) dan kering (GK) dibandingkan dengan baku pembanding terpeneol (P)

Hasil pengamatan terhadap bercak fraksi uji menunjukkan bahwa senyawa terpenoid pada bercak A dan D lebih polar dibandingkan dengan bercak lainnya sedangkan senyawa terpenoid pada bercak F merupakan jenis terpenoid yang bersifat paling non polar. Hal ini terlihat dari sifat fase diam silika gel yang bersifat polar dan fase gerak yang bersifat non polar, sehingga masing-masing bercak akan bergerak sesuai dengan kepolarannya masing-masing. Semakin besar nilai *R_f* maka semakin non polar senyawa terpenoid yang dihasilkan.

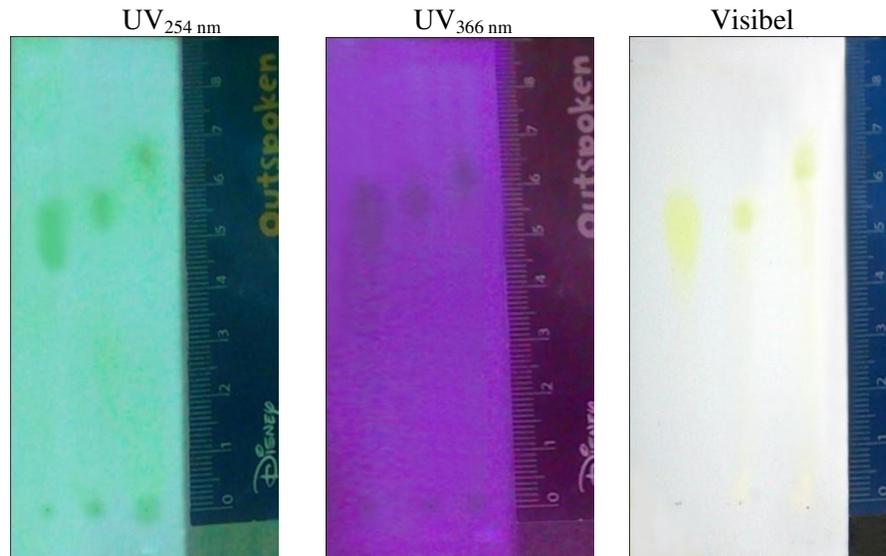
Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah dengan cara bereaksi terhadap porin (protein transmembran) yang terletak pada membran luar dinding sel bakteri, lalu membentuk ikatan polimer yang kuat dan menyebabkan rusaknya porin. Kerusakan ini akan mengakibatkan berkurangnya permeabilitas membran sel bakteri sehingga sel bakteri akan kekurangan nutrisi, yang akhirnya pertumbuhan bakteri akan terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Kromatogram yang dihasilkan oleh fraksi etil asetat daun gugur ketapang segar dan kering adalah bercak berwarna kuning setelah diuapi amonia di daerah sinar tampak.

Kromatogram hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai *Rf* pada bercak sampel daun gugur kering dan segar berturut-turut adalah 0,66 dan 0,80. Perbedaan nilai *Rf* tersebut dikarenakan perbedaan polaritas dari senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi uji. Senyawa yang lebih polar akan berinteraksi lebih kuat dengan fase gerak yang digunakan, sedangkan senyawa yang lebih tidak polar akan tertahan lebih kuat pada fase diam selulosa. Bercak dari daun gugur segar ketapang dengan nilai *Rf* 0,80 mempunyai interaksi lebih kuat dengan fase gerak sedangkan interaksinya dengan fase diam lebih lemah, sehingga senyawa flavonoid yang ada dalam daun gugur segar bersifat relatif lebih polar dibandingkan daun gugur kering dengan nilai *Rf* 0,66. Perbedaan nilai *Rf* dikarenakan adanya proses pemanasan pada daun gugur kering yang menyebabkan struktur kimia flavonoid menjadi berubah. Perubahan struktur kimia akan mempengaruhi polaritas dari senyawa tersebut dan juga efek antibakterinya. Hal ini bisa dilihat pada profil KLT, dimana nilai *Rf* dari daun gugur ketapang segar dan kering berbeda.

Berdasarkan hasil KLT terbukti bahwa fraksi uji yang berasal dari ekstrak metanol daun gugur ketapang mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri yang baik karena adanya gugus fenol. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri berhubungan dengan pembentukan ikatan kompleks dengan protein pada membran (protein-fenol) sehingga menyebabkan permeabilitasnya turun. Ikatan kompleks yang telah terbentuk kemudian terurai dan berpenetrasi ke dalam sel sehingga terjadi koagulasi protein dan menyebabkan enzim bakteri tidak aktif. Akibatnya membran sel bakteri tidak terbentuk dengan baik sehingga terjadi kebocoran sel dan bakteri mati (Pelczar *et al.*, 2008).

Katekin merupakan senyawa golongan flavonoid dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn. L) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Isolat senyawa flavonoid dari kulit akar awar-awar (*Ficus septica* Burm F) juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholera* dan *E. coli* (Sukadana, 2009; Sukadana, 2010).



Keterangan:

- Sampel : Fraksi etil asetat ekstrak metanol daun gugur ketapang
 Analisa : Flavonoid
 Fase diam : Selulosa
 Fase gerak : kloroform-aseton-asam formiat (60 : 15 : 5)
 Pereaksi : uap amonia
 Jarak pengembangan : 8 cm
 P : Pembanding kuersetin dengan Rf: 0,63
 GK : Fraksi etil asetat daun gugur kering ketapang
 GS : Fraksi etil asetat daun gugur segar ketapang
 Warna spot flavonoid di visible : kuning

Gambar 2. Kromatogram identifikasi senyawa golongan flavonoid dari fraksi etil asetat ekstrak metanol daun gugur ketapang segar (GS) dan kering (GK) dibandingkan dengan baku pembanding kuersetin (P)

Katekin merupakan senyawa golongan flavonoid dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn. L) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Isolat senyawa flavonoid dari kulit akar awar-awar (*Ficus septica* Burm F) juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholera* dan *E. coli* (Sukadana, 2009; Sukadana, 2010).

4. KESIMPULAN

1. Fraksi n-heksan dan etil asetat dari ekstrak metanol daun gugur ketapang segar dan kering memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Fraksi n-heksan mengandung senyawa golongan terpenoid sedangkan fraksi etil asetat mengandung flavonoid.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez, M.A., Debattista, N.B., and Pappano, N.B., 2008, Antimicrobial Activity and Synergism of Some Substituted Flavonoids, *Folia Microbiol*, **53**, 1, 23-28.
- Anonim, 1986^a, *Medical Herb Index In Indonesia*, hal. 85, PT. Eisai, Indonesia.
- Babayi, H., Kolo, I., Okogun, J.I., dan Ijah, U.J.J., 2004, The Antimicrobial Activities of Metanolic Extract of *Eucalyptus camaldulensis* dan *Terminalia catappa* Against Some Pathogenic Microorganisms, *An International Journal Nigerian Society for Experimental Biology*, **Vol. 16 No 2**, 106-111.
- Cowan, M., 1999, Plant Product as Antimicrobial Agent, *Clinical Microbiology Reviews* , **Volume 12, No. 4**, hal. 564-582.
- Dewi, R., Gana, A., dan Ruslan, K., 2004, Pemeriksaan Kandungan Flavonoid dan Asam Fenolat Daun Gugur Ketapang (*Terminalia catappa* L.), *Skripsi*, Departemen Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, penerjemah dan editor oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Edisi Pertama, hal. 265, 285-286, 318, 357, Salemba Medika, Jakarta.
- Katno dan Pramono, S., 2008, *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional*, hal. 45, Jogjakarta, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Pelczar, M., Chan, E.C.S., and Pelczar, M.F., 2008, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 514-515, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Sastrohamidjodjo, H., 1985, *Kromatografi*, Cetakan pertama, hal. 34, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Sukadana, I.M., 2009, Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* Linn.L), *Jurnal Kimia*, **3**, 2, 109-116.
- Sukadana, I.M., 2010, Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-awar (*Ficus septica* Burm F), *Jurnal Kimia*, **4**, 1, 63-70.
- Suismawan, R., Gana, A., dan Elin, Y., 2004, Uji Potensi Antimikroba Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.), *Skripsi*, Departemen Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Zein, U., Sagala, K.H., dan Ginting, J., 2004, *Diare Akut Disebabkan Bakteri*, www.library.usu.ac.id., diakses tanggal 29 Agustus 2014.