

**UJI DAYA HAMBAT DAN ANALISIS KLT-BIOAUTOGRAFI PERASAN
BUAH SAWO MANILA (*Achras Zapota* Linn) TERHADAP BAKTERI
UJI *Salmonella Thyposa***

Mardiyah Mustary, M.Natsir Djide, Ilham Mahmud, Nursiah Hasyim
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

ABSTRACT

The inhibitory effect of juice of Sawo Manila's (*Achras zapota* Linn) fruit on the growth of tested bacteria *Salmonella thyposa* Linn by using Thin Layer Chromatography (TLC) –Bioautography Method had been done. The aim of this research was to test the ability of the juice as an antibacterial compound in inhibitory bacterial growth and also to know which are the chemical compound in inhibitory bacterial growth and also to know which are of the chemical compound separated by TLC still have antibacterial effect after done TLC Bioautography. The result was show that Sawo manila's fruit was potensially to inhibit the growth of *Salmonella thyposa* with a large diametric inhibitor zone. The result of TLC-Bioautography ware shown 2 active compound of three.

Key Words: Inhibitory, Sawo Manila, TLC-Bioautography, *Salmonella Thyposa*

PENDAHULUAN

Penggunaan bahan yang berasal dari tumbuhan sebagai bahan obat tradisional maka perlu upaya peningkatan dengan diadakan penelitian terhadap tumbuhan yang bermanfaat dikalangan masyarakat, khususnya yang berkhasiat didalam bidang pengobatan dimana pengobatan dan pendayagunaan obat tradisional tersebut merupakan salah satu komponen program pelayanan kesehatan dasar, serta merupakan suatu alternatif untuk memenuhi kebutuhan dasar penduduk dibidang kesehatan¹.

Salah satu obat tradisional yang sering digunakan adalah Sawo Manila (*Achras zapota* L) dari suku sapotaceae yang menurut informasi dari penduduk dan beberapa literatur buah ini digunakan sebagai obat penyakit tipus yang menyebabkan demam tipoid. Masyarakat menggunakan buah ini dalam bentuk perasan (jus) untuk diminum. Penyakit ini banyak diderita oleh anak-anak/ orang muda, penyebabnya kuman *Salmonella thyposa* kuman ini terdapat didalam kotoran, urin manusia dan juga pada makanan dan minuman yang tercemar kuman disebarkan oleh lalat. Jadi penyakit ini bersumber pada lingkungan yang kotor dan tidak sehat².

Penyakit tipus menyerang usus dan menyebabkan luka pendarahan, serta bisa juga

terjadi kebocoran usus. Salah satu gejalanya mula-mula meningginya suhu tubuh secara bertahap setiap harinya, menggigil dan demam tinggi. Infeksi ini harus diobati secara serius dengan antibiotik untuk menghindari kontra indikasi setempat dan spesies yang dapat berpindah dari bagian tubuh ke bagian tubuh lain pada usus bagian luar³.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel

Sampel buah Sawo Manila diambil dari kabupaten Maros diambil buah yang muda berwarna coklat kehijauan dan keras.

Pengolahan Sampel

Sampel yang telah diambil dicuci dengan bersih dengan air dan ditiriskan kemudian dipotong-potong kecil setelah itu dihaluskan menggunakan blender.

Pembuatan Perasan Sampel

Perasan sampel Sawo manila konsentrasi 5% dibuat dengan cara sampel yang telah dipotong-potong, ditimbang sebanyak 5 gram lalu dimasukkan kedalam blender dan dihaluskan kemudian ditambahkan air suling hingga 100 ml lalu diperas dengan menggunakan kain plannel dan bila perasan yang diperoleh

kurang dari 100 ml maka ditambahkan air secukupnya melalui ampas hingga diperoleh pvolume 100 ml. Untuk membuat perasan 10%; 15%; 20%; 25%; 30%; 35%; 40%; 45% dibuat dengan menimbang 10 gram, 15 gram, 20 gram, 25 gram, 30 gram, 35 gram, 40 gram, 45 gram buah sawo manila dan dilakukan cara yang sama seperti untuk pembuatan 5% untuk pengukuran daerah hambatan.

Pembuatan larutan kontrol

Ditimbang 0,00030 g kloramfenikol, dilarutkan dalam Na CMC steril sampai 10 ml dalam labu ukur 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 30 ug/ml

Peremajaan Bakteri

Bakteri uji *Salmonella thyposa* yang berasal dari biakan murni diinokulasikan dengan cara digoreskan dalam medium Nutrien Agar (NA) miring selama 1 x 24 jam.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Mikroba uji yang telah diremajakan disuspensikan dengan larutan garam fisiologis steril lalu diukur transmittannya pada 25% menggunakan spektropotometer, sebagai blanko digunakan larutan garam fisiologis 0,9% dengan panjang gelombang 580 nm.

Pengujian Perasan Sampel

Medium MB steril dituang secara aseptik kedalam sembilan buah tabung reaksi steril masing-masing sebanyak 5 ml dan ditambahkan perasan buah dengan konsentrasi 5%; 10%; 15%; 20%; 25%; 30%; 35%; 40%; 45% masing-masing 5 ml dalam masing-masing tabung. Ditambahkan 0,2 ml bakteri uji *Salmonella thyposa* yang berumur 24 jam kedalam masing-masing tabung kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ selama 24 jam dan dilihat tingkat kekeruhan yang terbentuk untuk menentukan nilai hambatnya.

Penentuan Daerah Hambatan

Dipilih 4 konsentrasi setelah penentuan hambatan untuk pengukuran daerah hambatan (konsentrasi 15%,25%,35% dan 45%) kemudian medium GNA steril diinginkan hingga suhu 40⁰-45⁰ kemudian diisikan kecawan petri sebanyak 15 ml dan dibiarkan membeku ini sebagai

lapisan dasar. Setelah itu 10 ml medium GNA dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri dan dibiarkan membeku. Pencadang dengan diameter 6 mm, dan tinggi 10 ml diletakkan diatas medium tiap pencadang diisi dengan peraan buah sawo manila yang telah disiapkan dan air suling steril sebagai kontrol negatif dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam dan diukur daya hambatnya.

Pemisahan senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Dari 4 konsentrasi perasan sampel yang diujikan dipilih konsentrasi yang memiliki ona hambatan terbesar kemudian dipisahkan secara KLT, perasan tersebut ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 8 x 3 cm menggunakan tabung kapiler. Ditotolkan pula larutan kloramfenikol sebagai pembanding. Kemudian dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang dijenuhkan dengan cairan pengelusi, dibiarkan terelusi lalu dikeluarkan dari bejana dan diamati dibawah sinar UV 254 nm diperhatikan floresensi, lalu dibuat kromatogramnya.

Pengujian secara KLT-Bioautografi

Kedalam cawan petri dituang medium GNA sebagai lapisan dasar setelah itu medium GNA dicampur dengan suspensi bakteri dituangkan keatas lapisan dasar. Setelah memadat lempeng KLT, yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan media agar. Setelah 30 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan kemudian medium yang telah ditempel lempeng KLT diinkubasi pada suhu 37⁰ selama 24 jam, diamati zona hambatan yang terbentuk .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sawo manila (*Achras zapota* L) mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *Salmonella thyposa* dengan diameter hambatan terbesar 18,68 mm pada konsentrasi 45%.

Dari hasil KLT menggunakan eluent kloroform : methanol : air (15 : 6:1) dengan penampak muda sinar UV 366 nm menunjukka 3 noda dengan Rf 0,77 0,62, 0,37. Sedangkan larutan pembanding kloramfenicol dengan menggunakan eluent yang sama memiliki noda dengan Rf 0,85.

Analisa KLT- Bioautografi diperoleh 2 noda yang aktif dengan Rf 0,77 dengan diameter hambatan 9,27 mm dan Rf 0,62 dengan diameter hambatan 9,12 mm dalam menghambat pertumbuhan bakteri pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa*. Dari hasil ini dapat diketahui bahwa buah sawo manila ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri bakteri *Salmonella thyposa* karena adanya kandungan saponin. Senyawa ini memiliki sifat aktif permukaan yang mampu menghambat pertumbuhan sel mikroba dengan cara menghambat sintesa protein sel mikroba, selain itu kandungan tannin dan flavanoid dari sampel memiliki kemampuan mendenaturasikan protein sel mikroba sehingga dapat mengganggu keutuhan sel mikriba. Perbedaan besarnya daya hambat untuk masing-masing konsentrasi perasan diakibatkan karena perbedaan besarnya

kandungan zat aktif, dimana makin besar konsentrasi makin besar pula hambatannya.

Pada pengujian senyawa anti bakteri dengan menggunakan metode KLT-bioautografi dipilih metode bioautografi kontak agar diperoleh proses pemindahan senyawa aktif kedalam medium agar sehingga menghasilkan zona hambatan yang lebih besar dengan berkurangnya sensitifitas dan kemampuan membedakan antara senyawa aktif dengan nilai Rf yang sama.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa yang telah dilakukan dengan metode uji daya hambat dan analisis secara KLT-Bioautografi dapat disimpulkan bahwa perasan buah (jus) sawo manila dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thyposa* secara signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adnan A.Z., et al., 2002, *Penelitian Farmasi Dalam Tantangan Masa Depan*, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Pusat Penelitian Andalas, Padang
2. Syamsulhidayat, Hutapea J.R, 2002, *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia*, Badan Peneliti dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
3. Prabu, BDR, 2003, *Penyakit infeksi Umum*, Wijaya Medika, Jakarta
4. Shutman Phar Sommers, 2002, *Dasar Biologi dan Klinis, Penyakit Infeksi*, Penerjemah Ratna Sri Hadioetomo dkk, Universitas Indonesia Press, Jakarta
5. Sastrohamijodjo, H, 2002, *Kromatografi*, Liberti, Yogyakarta
6. Dwidjosaputra, 2003, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jambatan, Surabaya
7. Heyne, K., *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Direktorat Pengembanagan Hutan, Departemen Kehutanan RI.