

FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KALUS TUMBUHAN SERNAI (*Wedelia biflora* (L.)DC.)

Afnidar¹

¹Dosen Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Almuslim
Email : ambia.tj@mail.com

Diterima 2 Maret 2014/Disetujui 25 April 2014

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang "Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Kalus Tumbuhan Sernai (*Wedelia biflora* (L.)DC.)". Analisis fitokimia dengan metode observasi menggunakan pereaksi-pereaksi fitokimia. Uji Aktifitas Antibakteri menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan terdiri dari ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* dengan konsentrasi 50%, 25% dan 10%, kontrol positif (kloramfenikol 30 µg) dan kontrol negatif (akuades) dengan tiga ulangan. Hasil analisis fitokimia ekstrak metanol kalus batang *W. biflora* megandung senyawa alkaloid dan terpenoid. Ekstrak metanol kalus daun *W. biflora* mengandung senyawa alkaloid, terpenoid dan flavonoid. Uji aktifitas antibakteri menggunakan cakram difusi agar. Daya hambat ekstrak metanol kalus daun dan batang *W. biflora* pada konsentrasi 50%, 25% dan 10% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* tidak memiliki zona hambat. Kloramfenikol mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan zona hambat rata-rata 25,3 mm dan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat 14,0 mm serta kontrol negatif dengan zona hambat 0,0 mm. Ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* dilakukan uji dengan Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa (KG-SM). Dari data KG-SM tersebut terdeteksi beberapa kandungan senyawa, sebagian besar kandungan tersebut terdiri dari berbagai asam lemak dengan persentase tertinggi yaitu asam palmitat sebanyak 32,53% pada kalus batang dan 35,31% pada kalus daun.

Kata kunci : Kalus daun dan batang (*Wedelia biflora* (L.) DC.), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, zona hambat, Kromatografi Gas- Spektrofotometri Massa (KG-SM).

ABSTRACT

This research is about Phytochemistry and Antibacterial Activity Test of Wedeli biflora (L.) DC. The phytochemistry analysys with observation method using Phytochemistry reagent. Antibacterial activity test has been conducted by using Completely Randomize Design. We treated W. biflora callus methanol extract's stem and leaves with the solution concentrated of 50%, 25% and 10%, respectively, positive control (Chloramphenicol 30 µg) and negative control (Aquadest). We did three times for each component. W. biflora callus methanol stem were consisted of alkaloid and terpenoid compounds. W. biflora callus methanol leaves were consisted of alkaloid, terpenoid and flavonoid compounds. Antibacterial activity test was ferformed by using agar diffusion method. The inhibition zone was formed from the growth of Escherichia coli and Staphylococcus aureus. We found that none of W. biflora callus methanol extract stem nor leaves of solution concentrated 50%, 25% and 10% has resintance to E. coli and S. aureus, meanwhile choramfenicol is able to restrict the growth of E. coli 25,3 mm, 14 mm of S. aureus and negative control in the broad of 0,0 mm of inhibition zone. W. biflora callus methanol extract stem and leaves with Gass Cromatography- Massa Spectrofotometry. We detected several compound contents. We considered mostly were consisted of fatty acid whose the highest concentrate was palmitic acid with 32,53% in the callus stem and 35,31% obtained in the callus leaves.

Keyword : Callus stem and leaves (Wedeli biflora (L.) DC.), Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Inhibition zone, Gass Cromatography- Massa Spectrofotometry (GS-MS).

PENDAHULUAN

Sejak zaman prasejarah manusia telah memanfaatkan tumbuhan untuk mengobati berbagai penyakit. Pengetahuan ini telah diwariskan secara turun temurun berdasarkan adat kebiasaan, namun senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut belum banyak diketahui. Menurut Achmad *et al.* (1995) dari 250.000 jenis tumbuhan di seluruh dunia hanya 0,4% yang telah diselidiki kandungan kimianya. Grainge dan Ahmed (1988), selama enam tahun melakukan penulisan pustaka dan wawancara berhasil menghimpun data, bahwa sekitar 2.400 jenis tumbuhan mengandung racun terhadap penyakit dan parasit pada hewan. Salah satu diantara jenis tanaman tersebut adalah tumbuhan *Wedelia biflora*.

Achmad (1986) melaporkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan berguna untuk melindungi dirinya terhadap serangan mikroba dan organisme lain untuk melestarikan kelangsungan hidupnya. Metabolit sekunder yang ditemukan dalam tumbuhan antara lain terpenoid, steroid, alkaloid, fenol, flavonoid.

Tumbuhan *W. biflora* adalah salah satu spesies dari famili Asteraceae yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Seduhan akar dan batang tumbuhan ini digunakan untuk menyembuhkan penyakit keputihan dan gonorrhoe, sedangkan perasan dari batangnya yang masih muda untuk mengobati luka dan bisul. Air rebusan batang dan daunnya digunakan sebagai obat gatal-gatal, juga untuk menurunkan panas dan diuretik (Heyne, 1987). Tumbuhan ini dalam bahasa Sunda dan Jawa dikenal dengan nama seruni yang tumbuh diseluruh Indonesia. Umumnya tumbuhan terdapat di daerah tepi pantai berpasir dan pinggiran hutan bakau (Kasahara dan Hemmi, 1986).

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Murniana *et al.* (1998) menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari akar *W. biflora* mengandung komponen utama dari golongan terpenoid. Penelitian tersebut dilanjutkan oleh Razali (2001) dimana ekstrak dari akar tumbuhan *W. biflora* diuji aktifitas antimikrobialnya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol akar *W. biflora* aktif dapat menghambat pertumbuhan kedua jenis bakteri tersebut sedangkan pada *C. albicans* tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur tersebut. Elfariyanti (2003), melaporkan bahwa ekstrak *n*-heksana batang tumbuhan *W. biflora* mampu menghambat aktivitas antimikrobial yang kuat, terhadap *S. aureus* dan terhadap *C. albicans*.

Kultur jaringan sel tanaman secara *in vitro* merupakan salah satu cara untuk produksi metabolit sekunder, terutama senyawa yang berkhasiat obat yang dapat menghasilkan senyawa setiap waktu pada kondisi lingkungan yang dapat diatur dan dimungkinkan pula mengatur proses metabolismenya

untuk memperoleh hasil yang sebesar-besarnya (Sandra, 2000).

Penelitian tentang senyawa bioaktif antimikrobial dari ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun hasil dari kultur jaringan tumbuhan *W. biflora* belum dilaporkan. Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini bertujuan untuk melihat kandungan senyawa metabolit sekunder dalam kalus batang dan kalus daun *W. biflora* hasil dari kultur jaringan dan uji hayati menggunakan bioindikator *E. coli* dan *S. aureus*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia FMIPA dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kalus batang dan daun tumbuhan *W. biflora* yang telah di kultur jaringan di Laboratorium Biologi Sel dan Molekuler Jurusan Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala.

Bioindikator

Bioindikator yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Kesehatan, Banda Aceh.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini *rotary evaporator*, labu Erlenmeyer, gelas kimia, inkubator, autoklaf, neraca analitik digital, cawan petri, mikro pipet, pinset, kawat Ose, *test plate*, seperangkat alat destilasi uap, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas piala, labu ukur, pemanas, bunsen, lumpang porselen, corong, penjepit, pisau silet, metanol teknis, kloroform teknis, aseton pa, asam sulfat, media MHA, NaCl fisiologis, *aquadest*, kapas lidi steril, kertas saring Whatman dan pereaksi-pereaksi untuk uji fitokimia.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metoda Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan seperti Tabel 1 di bawah ini :

Tabel 1. Bentuk rancangan penelitian

Perlakuan	Ulangan		
	A	B	C
P ₀	P ₀ A	P ₀ B	P ₀ C
P ₁	P ₁ A	P ₁ B	P ₁ C
P ₂	P ₂ A	P ₂ B	P ₂ C
P ₃	P ₃ A	P ₃ B	P ₃ C
P ₄	P ₄ A	P ₄ B	P ₄ C

Keterangan :

P₀ : Akuades sebagai kontrol negatif

- P₁ : Ekstrak kalus batang dan daun *W. Biflora* dengan konsentrasi 50%
P₂ : Ekstrak kalus batang dan daun *W. biflora* dengan konsentrasi 25%
P₃ : Ekstrak kalus batang dan daun *W. biflora* dengan konsentrasi 10%
P₄ : Kloramfenikol dengan konsentrasi 30 µg sebagai kontrol positif

Prosedur Kerja

Preparasi Sampel dan Pelarut

Kalus batang dan kalus daun tumbuhan *W. biflora* yang masih segar dikeringkan selama 1 hari di udara terbuka kemudian kalus batang dan daun dipotong-potong dan ditimbang untuk dimaserasi. Pelarut metanol yang digunakan merupakan pelarut teknis sehingga harus didestilasi.

Ekstraksi

Masing-masing kalus batang dan daun tumbuhan *W. biflora* yang sudah dikering-anginkan ditimbang sebanyak 20 g dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Selanjutnya sampel yang telah kering dimaserasi dengan pelarut metanol selama 1x24 jam, hasil maserasi tersebut disaring dengan menggunakan corong kaca dengan dilapisi kertas saring sehingga ampas dengan cairannya terpisah dan diulangi sampai filtrat yang diperoleh benar-benar jernih. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi dengan menggunakan alat *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak metanol murni. Ekstrak metanol kalus batang dan daun tumbuhan *W. biflora* berupa cairan yang merupakan konsentrasi 100% dan untuk mendapatkan konsentrasi selanjutnya dilakukan dengan pengenceran.

Preparasi Larutan Uji

Masing-masing ekstrak metanol kalus batang dan daun tumbuhan *W. biflora* dilarutkan dalam akuades dengan konsentrasi sebagai berikut : 50%, 25%, dan 10% (b/v).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni bakteri *E. Coli* dan *S. aureus* yang berumur 24 jam diambil dengan kawat Ose lalu disuspensikan kedalam akuades steril dengan cara mengoleskan koloni bakteri pada dinding tabung reaksi. Kemudian diaduk dengan kawat Ose sampai koloni halus dan bercampur dengan akuades hingga terbentuk kekeruhan atau kerapatannya. Selanjutnya disetarakan dengan standar 0,5 *Mc Farland* (Anonimus, 2008).

Uji Antibakteri

Pengujian dilakukan dengan metode Kirby-Bauer menggunakan cakram. Media yang digunakan Mueller-Hinton Agar (MHA) steril sebanyak 19 g dilarutkan dalam 0,5 L akuades, kemudian

disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setiap cawan petri diisi dengan media MHA sebanyak 15-20 mL dan dibiarkan beberapa saat hingga memadat. Pada media padat disebarkan suspensi bakteri sebanyak 0,1 mL yang telah disesuaikan dengan standar 0,5 *Mc Farland* secara merata dengan menggunakan batang penyebar. Media MHA pertama dibagi menjadi 3 bagian (A, B dan C) yang masing-masing diletakkan cakram yang berisi ekstrak metanol kalus batang dan daun tumbuhan *W. biflora* dengan konsentrasi 50%, 25% dan 10% sebanyak 20 µL. Selanjutnya media MHA kedua dibagi menjadi 2 daerah (D dan E). Daerah D diletakkan cakram antibiotik kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif dan daerah E diletakkan cakram yang berisi akuades sebagai kontrol negatif, perlakuan dilakukan hinggatiga kali. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati pertumbuhan bakteri pada setiap konsentrasi. Panjang zona hambat yang terbentuk diukur dengan penggaris dalam millimeter (Lay, 1994). Kedua ekstrak tersebut diuji dengan Kromatografi gas dan Spektrofotometri Massa (KG-SM).

Uji Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Sampel dimasukkan ke dalam tiga lubang *test plate*, masing-masing sebanyak 3 tetes, sampel tersebut diuji dengan pereaksi Mayer, Dragenrdorff, dan Wagner. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Mayer, endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendorf dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

b. Uji terpenoid, steroid dan fenol

Sampel sebanyak 3 tetes dimasukkan ke dalam *test plate*, ditambahkan pereaksi Liebermand-Buchard (Campuran CH₃COOH anhidrat 3 tetes dengan H₂SO₄ pekat 1 tetes). Bila berwarna merah jingga atau ungu positif adanya terpenoid, bila warna hijau positif adanya steroid, jika uji diatas hasilnya negatif, maka sampel ditambahkan metanol ditetaskan pada *test plate*, kemudian ditambahkan larutan FeCl₃ bila hasil reaksi bewarna ungu, maka positif adanya fenol.

c. Uji Flavonoid

Sampel sebanyak 5 tetes dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan etanol dan dipanaskan selama 15 menit. Selanjutnya diuapkan pelarutnya sampai tinggal sedikit dan ditambahkan HCl pekat dan 0,2 g serbuk Mg, bila timbul warna merah positif adanya

flavonoid.

d. Uji Saponin

Sampel sebanyak s tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml air, kemudian dididihkan selama 2-3 menit dan didinginkan lalu dikocok, dilihat adanya busa atau tidak. Bila terbentuk busa yang stabil selama 30 menit positif adanya saponin.

e. Uji Kumarin

Sampel sebanyak 5 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diberi pelarut kloroform atau metanol, ditutup dengan kertas saring (kertas saring jenuh dengan NaOH) dipanaskan di *waterbath*, uapnya akan bereaksi dengan NaOH, dilihat dengan lampu UV, bila terjadi fluoresensi positif adanya kumarin.

Parameter Penelitian

Parameter yang diamati adalah kandungan senyawa metabolit sekunder pada kalus batang dan kalus daun tumbuhan *W. biflora* dan zona hambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.

Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi dan Uji Fitokimia

Hasil maserasi masing-masing 20 g kalus batang dan daun tumbuhan *W. biflora* dengan maserasi menggunakan pelarut metanol dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Kalus Batang dan Daun *W. biflora*

Ekstrak Metanol	Berat (g)	Persentase (%)
Batang	1,97	9,85
Daun	2,23	11,15

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kalus Batang dan Daun *W. biflora*.

No	Uji fitokimia	Ekstrak metanol	
		Kalus Batang	Kalus Daun
1.	Alkaloid		
	Wagner	+	+
	Mayer	+	+
	Dragendorf	+	-

2.	Terpenoid	+	+
3.	Steroid	-	-
4.	Fenol	-	-
5.	Flavonoid	-	+
6.	Saponin	-	-
7.	Kumarin	-	-

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa ekstrak metanol kalus batang *W. biflora* mengandung senyawa alkaloid yang terlihat dengan terbentuknya endapan coklat jika direaksikan dengan pereaksi Wagner, terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Mayer dan terbentuknya endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendorf. Pada ekstrak metanol kalus batang *W. biflora* juga mengandung senyawa terpenoid yang terlihat dengan timbulnya warna ungu ketika direaksikan dengan reagen Libermann-Buchard (campuran CH₃COOH anhidrat 3 tetes dengan H₂SO₄ pekat 1 tetes).

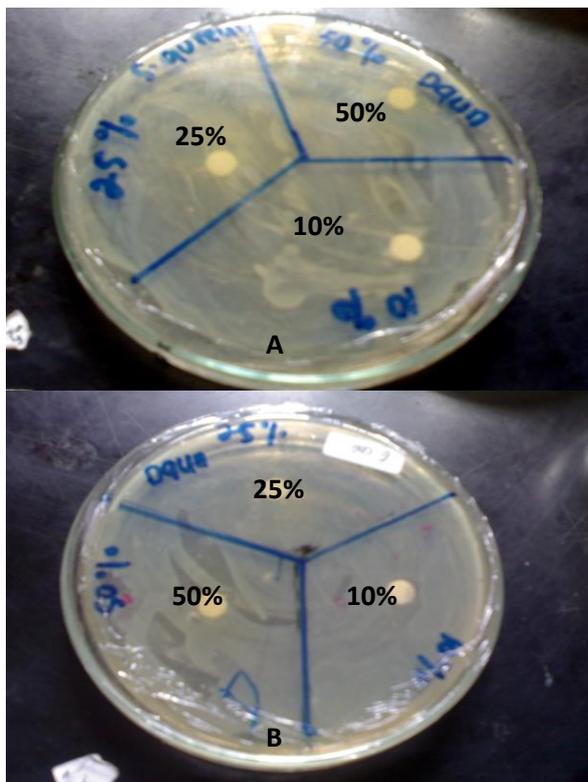
Ekstrak metanol kalus daun *W. biflora* juga mengandung senyawa alkaloid, namun pada kalus daun *W. biflora* tidak terjadi perubahan warna dengan pereaksi Dragendorf. Ekstrak ini juga mengandung senyawa terpenoid. Senyawa terpenoid yang terdapat dalam ekstrak metanol umumnya merupakan senyawa-senyawa yang mengikat oksigen dalam jumlah yang lebih banyak (*Highly Oxygenated Compound*) sehingga ekstrak metanol cenderung bersifat lebih polar. Ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* juga mengandung senyawa flavonoid dengan terbentuknya endapan merah setelah ditambahkan HCl pekat dan 0,2 g serbuk Mg. Hasil uji fitokimia pada ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* terhadap senyawa-senyawa steroid, fenol, saponin, dan kumarin tidak dapat terdeteksi oleh reagen-reagen fitokimia yang digunakan. Hal ini diduga karena kandungan senyawa-senyawa tersebut tidak terdapat dalam ekstrak. Hal ini memperkuat pernyataan dari Naim (2005), bahwa setiap tanaman memiliki suatu kemampuan yang hampir terbatas untuk mensintesis substansi aromatik. Substansi itu merupakan senyawa metabolit sekunder dan beberapa diantaranya telah berhasil diisolasi. Substansi tersebut berfungsi sebagai pertahanan tanaman terhadap mikroorganisme dan insekta.

Zona hambat Ekstrak Metanol Kalus Batang dan Daun *Wedelia biflora* Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*

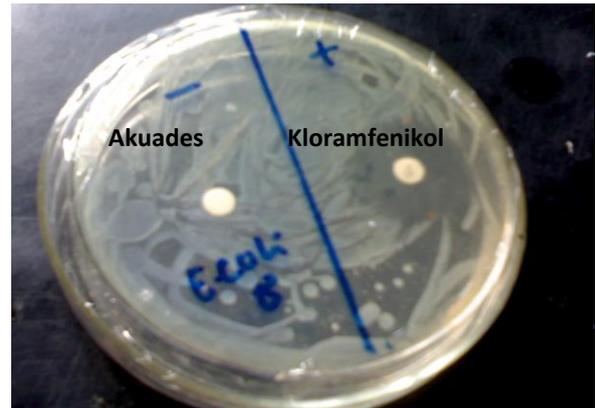
Hasil uji daya hambat ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* pada pengamatan 48 jam diperoleh bahwa perlakuan P₁, P₂ dan P₃ dengan konsentrasi masing-masing 50 %, 25% dan 10% tidak membentuk zona hambat. Zona hambat yang terbentuk pada perlakuan P₄ (Kloramfenikol sebagai kontrol positif) pada bakteri *E. coli* membentuk zona hambat dengan diameter rata-rata 25,3 mm sedangkan pada bakteri *S. aureus* membentuk zona hambat dengan diameter rata-rata 14 mm, sedangkan pada

perlakuan P₀ (akuades sebagai kontrol negatif) tidak menunjukkan respon hambatan.

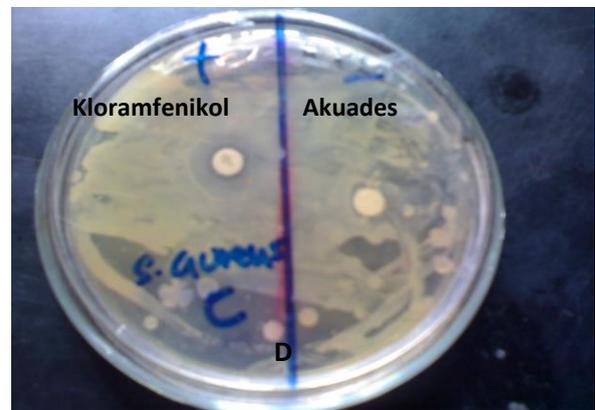
Hasil uji fitokimia ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* menunjukkan beberapa senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai antibakteri seperti alkaloid, terpenoid dan flavonoid. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak terdapat pada ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora*. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu senyawa alkaloid mampu menghambat pertumbuhan bakteri, Hal ini didukung oleh Naim (2005) yang menyatakan bahwa yang menyatakan bahwa alkaloid merupakan senyawa nitrogen heterosilik yang banyak terkandung pada tanaman dan dan digunakan sebagai bahan antimikrobal karena mampu membunuh bakteri dengan cara merusak DNA bakteri tersebut. Diperkuat dari penelitian robinson (1995) bahwa senyawa alkaloid dan flavonoid adalah senyawa yang mempunyai sifat anti mikroorganisme, karena senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme



Gambar 1. A Zona hambat yang tidak terbentuk pada ekstrak metanol daun terhadap bakteri *S. aureus* dan B. Zona hambat yang tidak terbentuk pada ekstrak metanol kalus daun terhadap bakteri *E. coli* masing-masing pada konsentrasi 50%, 25% dan 10%



Gambar 2. Kontrol positif (Kloramfenikol) dan kontrol negatif (Akuades) terhadap bakteri *E. coli*



Gambar 3. Kontrol positif (Kloramfenikol) dan Kontrol negatif (Akuades) pada bakteri *S. aureus*

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun *W. biflora* dengan konsentrasi 50%, 25% dan 10% tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri, karena ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun *W. biflora* yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar. Terdapat beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tersebut seperti kandungan senyawa metabolit sekunder pada batang yaitu terdiri dari alkaloid, terpenoid dan flavonoid, begitu juga kandungan senyawa metabolit sekunder pada kalus daun *W. biflora* terdiri dari alkaloid dan terpenoid. Diduga senyawa alkaloid yang terkandung dalam kedua ekstrak tersebut tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri, karena dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang lain, Misalnya pada ekstrak metanol kalus batang *W. biflora* dipengaruhi oleh senyawa terpenoid dan flavonoid sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Sama halnya pada ekstrak metanol kalus daun *W. biflora* senyawa alkaloid tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri, diduga senyawa alkaloid tersebut mendapat pengaruh dari senyawa terpenoid. Pendugaan yang sama juga pada

senyawa flavonoid, apabila pada ekstrak tersebut hanya terdiri dari senyawa flavonoid saja, diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, sedangkan pada kontrol positif (Kloramfenikol) dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Menurut Lay (1994) kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba dapat diketahui dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekeliling cakram. Hal ini juga dipertegas oleh Gupte (1990) bahwa besarnya zona hambat yang terbentuk menunjukkan derajat kepekaan bakteri terhadap antibiotik yang digunakan.

Kemampuan ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* bila dibandingkan dengan kloramfenikol sangat berbanding terbalik. Apabila dibandingkan dengan kloramfenikol, konsentrasi ekstrak metanol kalus batang dan daun *W. biflora* 50%, 25% dan 10% sama sekali tidak memiliki kemampuan hambat. Besar atau kecilnya zona hambat yang terbentuk dapat menyatakan bahwa suatu antimikroba tersebut bersifat sensitif, intermediet atau resisten terhadap pertumbuhan suatu mikroba. Greenwood (1995) yang *disitasi* oleh Pratama (2005) menyatakan bahwa zona hambat yang telah diukur dapat diklasifikasikan berdasarkan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Greenwood,1995 *disitasi* oleh Pratama, 2005)

Diameter zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
... > 20 mm	Kuat (Sensitif)
16 - 20 mm	Sedang (Intermediet)
1 - 15 mm	Lemah (Resistens)
... 0 mm	Tidak ada

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa apabila diameter zona hambat lebih besar dari 20 mm, maka respon hambatan pertumbuhannya kuat (sensitif). Apabila 16-20 mm maka hambatan pertumbuhannya sedang (intermediet) dan apabila 1-15 mm hambatan pertumbuhannya lemah (resisten), sementara jika 0 mm maka tidak ada respon hambatan pertumbuhannya.

Berdasarkan penjelasan di atas dapat diketahui bahwa kontrol positif (kloramfenikol 30 µg) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* bersifat kuat (sensitif) dengan diameter rata-rata 25,3 mm, kontrol positif (kloramfenikol) terhadap pertumbuhan *S. aureus* bersifat lemah (resisten) dengan diameter rata-rata 14 mm, dan ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun

W. biflora dengan konsentrasi 50%, 25% dan 10% sama sekali tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, sedangkan pada kontrol negatif (akuades) juga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan karena ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun *W. biflora* yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar, sedang ekstrak kasar tersebut terdiri dari beberapa senyawa metabolit sekunder. Apabila kandungan kedua ekstrak tersebut terdiri dari senyawa tunggal diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Komponen Penyusun Ekstrak Kalus Batang dan Kalus Daun *Wedelia biflora* Secara Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa (KG-SM)

Hasil karakterisasi dengan menggunakan KG-SM terhadap ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun *W. biflora* yaitu masing-masing ekstrak mengandung 10 komponen senyawa utama. Komponen senyawa tersebut ditunjukkan pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5 dan 6 menunjukkan bahwa ekstrak metanol kalus daun *W. biflora* terdiri dari senyawa asam palmitat 35,31 %, asam glutarat 10,71 %, dimetil glutarat 10,40 %, dimetil adipat 9,51 %, asam stearat 5,17 %, asam oleat 4,54 %, metil palmitat 4,19 %, 2-heptadekanon 1,92 %, 2-pyrrolidinone 1,85 % dan asam miristat 1,66 %. Ekstrak metanol kalus batang *W. biflora* terdiri dari senyawa asam palmitat 32,53 %, asam stearat 9,83 %, asam oleat 6,57 %, asam glutarat 4,55 %, dimetil adipat 4,08 %, alpha-D-galaktopiranosida 3,91 %, dimetil ester 3,69 %, sikloheksana 3,60 %, 1,6 anhydro-beta- glukopiranosida 3,08 %, dimetil glutarat 2,91 %. Dilihat dari tabel hasil KG-SM kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa yang hampir bersamaan yaitu sebagian besar terdiri dari berbagai asam lemak.

Uji antibakteri kedua ekstrak tersebut tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan kandungan asam lemak pada kedua ekstrak mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Dilihat dari hasil yang telah dilakukan pada penelitian ini diduga kandungan dari berbagai asam lemak dalam kedua ekstrak tersebut terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit, sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini didukung oleh Kusmiyati dan Agustini (2007) yang menyatakan bahwa asam lemak jenuh dan tak jenuh yang memiliki atom karbon lebih dari sepuluh yang dapat menyebabkan protoplas bakteri mengalami lisis dengan cara mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri atau kematian pada bakteri.

Tabel 5 Komponen penyusun ekstrak metanol kalus daun *W. biflora* dengan data KG-SM

No	R. Time	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Persentase (%)
1	20,739	Asam palmitat	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	35,31
2	9,220	Asam glutarat	C ₁₅ H ₈ O ₄	10,71
3	9,059	Dimetil glutarat	C ₆ H ₈ O ₄	10,40
4	11,230	Dimetil adipat	C ₆ H ₁₀ O ₄	9,51
5	22,632	Asam stearat	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	5,17
6	22,483	Asam oleat	C ₁₈ H ₁₃ O ₂	4,54
7	20,138	Metil palmitat	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	4,19
8	19,935	2-heptadekanon	C ₁₇ H ₃₆	1,92
9	8,842	2-pyrrolidinone	C ₄ H ₇ NO	1,85
10	18,548	Asam Miristat	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	1,66

Tabel 6 Komponen penyusun ekstrak metanol kalus batang *W. biflora* dengan data KG-SM

No	R. Time	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Persentase (%)
1	20,783	Asam palmitat	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	32,53
2	22,662	Asam stearat	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	9,83
3	22,504	Asam oleat	C ₁₈ H ₁₃ O ₂	6,57
4	9,065	Asam glutarat	C ₅ H ₁₈ O ₄	4,55
5	11,208	Dimetil adipat	C ₆ H ₁₀ O ₄	4,08
6	18,358	Alpha-D-galaktopiranos	C ₇ H ₁₄ O ₆	3,91
7	9,117	Dimetil ester	C ₃ H ₄ O ₄	3,69
8	10,420	Sikloheksana	C ₉ H ₁₈	3,60
9	16,519	1,6 anhydro-Beta-glukopiranos	C ₆ H ₁₀ O ₅	3,08
10	9,225	Dimetil glutarat	C ₆ H ₈ O ₄	2,91

PENUTUP

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Ekstrak metanol kalus batang *W. biflora* mengandung senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari alkaloid, terpenoid dan flavonoid, sedangkan ekstrak metanol kalus daun *W. biflora* terdiri dari senyawa alkaloid dan terpenoid.
2. Ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun *W. biflora* dengan konsentrasi 50%, 25% dan 10% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* diduga karena ekstrak metanol yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar dan tidak terdiri dari senyawa tunggal. Daya hambat kedua ekstrak tersebut sangat berbanding terbalik dengan yang menggunakan antibiotik (kloramfenikol 30 µg) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat 25,3 mm terhadap bakteri *E. coli* dan 14 mm terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.
3. Dari hasil analisis KG-SM dari kedua ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun *W. biflora* sebagian besar terdiri dari berbagai asam lemak, diduga kandungan asam lemak yang terdapat dalam kedua ekstrak tersebut sangat sedikit, sehingga diduga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan ekstrak metanol kalus batang dan kalus daun *W. biflora* dengan konsentrasi yang lebih tinggi agar dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat membentuk zona hambat pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S . A., E.H. Hakim, Lia D, J., L, Makmur, Sofiati K dan Yana M.S., 1995. *Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Etnobotani*, Yogyakarta
- Achmad, S.A., 1986. *Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*, Universitas Terbuka, Depdikbud, Jakarta.
- Elfariyanti, 2003. Isolasi Senyawa Bioaktif Anti Mikrobial Ekstrak *n*-heksana Batang Tumbuhan *Wedelia biflora*. *Skripsi FMIPA Unsyiah*. Banda Aceh.
- Gupte. S., 1990. Mikrobiologi Dasar Edisi Ketiga. Terjemahan dari *The Textbook of Medical Microbiology*, oleh J. E. Suryawidjaja. Binarupa Aksara, Jakarta.
- Harborne, J. B., 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis*

- tumbuhan. Terjemahan dari *Method of Phytochemistry*, oleh K. Padnawinata, dan I. Soediro. ITB. Bandung.
- Heyne, K., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid III. Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, Jakarta.
- Kasahara, S dan Hemmi, Z, 1986. *Medical Herb index in Indonesia*, PT. Eisai Indonesia, Jakarta.
- Kusmiyati., Agustini, N. S, 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. www.Journal.unair.ac.id/filerPDF/Antibakteri.pdf. Diakses Tanggal: 7 April 2009.
- Lay, B. W., 1994, *Analisis Mikroba Di laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Naim, R. 2005. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. Dosen FKH dan Pascasarjana IPB, [http://www. Iptek.net.id](http://www.Iptek.net.id) [6 April 2009].
- Murniana, Kartini H., dan MP Bahi. 1998, Uji Bioaktif Insektisida Ekstrak Tumbuhan *Wedelia biflora* terhadap Kutu Beras (*Calandra oryzae*), *Laporan Penelitian Biaya Rutin*. Lembaga Penelitian Unsyiah, Banda Aceh..
- Pratama, M. R. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Saivadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutan* dan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Agar. *Skripsi. IPB. Bogor*. <http://skripsi.blogsome.com/>. Diakses Tanggal : 3 April 2009.
- Razali, M., 2001. Uji Aktivitas Antimikrobia Ekstrak Akar Tumbuhan *Wedelia biflora*, *Skripsi, FMIPA, Unsyiah. Darussalam*, Banda Aceh.
- Robinson dan trevor, 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan tinggi*, ITB. Bandung.