

**ANALISIS BIOAUTOGRAFI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOL DAUN MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.)
TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acne***

**BIOAUTOGRAPHIC ANALYSIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTING OF
NONI (*Morinda citrifolia* L.) ETHANOL EXTRACT AGAINST
Propionibacterium acne BACTERIA**

^{1*}Haris Munandar Nasution, ¹Rati Satri Situmorang

¹Program Studi S1 Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan

Korespondensi penulis: Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan
Alamat email: harismunandarst15@gmail.com

Abstrak. Mengkudu atau (*Morinda citrifolia* L.) mengandung senyawa antrakuinin, scaloptin, flavonoid dan adaptogen yang secara aktif yang memiliki efek anti jamur dan antimikroba. Antibakteri berbahan kimia memiliki banyak efek samping negatif, dan diperlukan alternatif lain sebagai antibakteri yang salah satunya dengan memanfaatkan mengkudu. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis bioautografi dan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mengkudu terhadap bakteri *Propionibacterium acne*. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan ekstrak etanol daun mengkudu dengan konsentrasi 30%, 40%, 50%. Analisis bioautografi dilakukan dengan menggunakan KLT dan uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol daun mengkudu dengan konsentrasi 30% memiliki zona hambat 8,36 mm dengan kategori sedang, konsentrasi 40% memiliki zona hambat 10,3 mm dengan kategori kuat dan konsentrasi 50% memiliki zona hambat 11,1 mm dikategori kuat, pada kontrol positif tetrasiklin memiliki zona hambat 20,8 mm dikategorikan sangat kuat. Hasil pengujian Bioautografi dilakukan dengan menggunakan fase gerak kloroform banding n-heksan (7:3). Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode bioautografi kontak hasil yang diperoleh terdapat bercak pada kromatogram yang menghasilkan zona hambat pada nilai Rf 0,17; 0,23; 0,32; 0,38. Karakteristik bercak dilakukan dengan penampakan bercak FeCl₃ 10% diduga bercak tersebut adalah senyawa flavonoid.

Kata Kunci: *Morinda citrifolia* L, Antibakteri, *Propionibacterium acne*, Uji Bioautografi

Abstract. Noni or (*Morinda citrifolia* L.) contains active anthraquinone, scaloptin, flavonoid, and adaptogen compounds that have antifungal and antimicrobial effects. Antibacterial chemicals have many negative side effects, and other alternatives are needed as antibacterials, one of which is by using noni. This study aims to analyze bioautography and determine the antibacterial activity of noni leaf ethanol extract against *Propionibacterium acne* bacteria. This research was conducted experimentally using noni leaf ethanol extract with concentrations of 30%, 40%, and 50%. The bioautography analysis was performed using TLC and the antibacterial activity test was performed using paper discs. The results of antibacterial testing of noni leaf ethanol extract with a concentration of 30% had an inhibitory zone of 8.36 mm with a medium category, a concentration of 40% had an inhibition zone of 10.3 mm with a strong category and a concentration of 50% had an inhibition zone of 11.1 mm in a strong category. Tetracycline positive control has an inhibition zone of 20.8 mm which is categorized as very strong. The results of the bioautography test were carried out using the mobile phase of chloroform versus n-hexane (7:3). Testing of antibacterial activity by contact bioautography method, the results obtained are spots on the chromatogram which produce an inhibition zone at an Rf value of 0.17; 0.23; 0.32; 0.38. The characteristics of the spots were carried out by the appearance of 10% FeCl₃ spots, it was suspected that the spots were flavonoid compounds.

Keywords: *Morinda citrifolia* L, Antibacterial, *Propionibacterium acne*, Bioautography Test

PENDAHULUAN

Daun mengkudu mengandung protein, zat kapur, zat besi, karoten, dan juga askorbin. Sedangkan pada bunga mengkudu terkandung glikosida antarkiron. Kandungan senyawa antrakuinin, scaloptin, dan adaptogin merupakan senyawa aktif yang memiliki efek anti jamur dan anti mikroba [1]. *Propionibacterium acne* salah satu bakteri Gram positif yang merupakan salah satu bagian floral normal yang terdapat pada kulit dan menyebabkan infeksi oportunistik yang menghasilkan lipase

sebagai kontributor pada pembentukan jerawat. *propionibacterium acne* berperan pada patogenis jerawat dengan menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit [2]. Populasi bakteri *P. acnes* dapat diturunkan dengan memberikan antibiotik seperti eritromisin, klindamisin dan tetracycline. Antibiotik golongan tetrasiklin menunjukkan spektrum antibakteri yang luas, terutama dalam mempengaruhi mikroorganisme yang sedang membelah diri. Tetrasiklin banyak digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh beberapa jenis bakteri gram positif dan gram negatif. Meskipun penggunaan antibiotik cukup efektif mengatasi jerawat, namun penggunaan antibiotik sebagai pilihan utama penyembuhan jerawat harus ditinjau kembali untuk membatasi perkembangan resistansi bakteri terhadap antibiotik. Sedangkan penggunaan antibiotik yang berlebihan dapat menyebabkan bakteri yang semula sensitif menjadi resistensi. Oleh karena itu diperlukan pencarian senyawa antibakteri alami yang tidak menimbulkan dampak negatif terhadap manusia yaitu dengan memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung dalam tumbuhan [2]. Senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan sebagai antibakteri adalah senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik dan mekanisme kerjanya membentuk senyawa kompleks dengan protein dan terlarut sehingga dapat merusak dinding sel bakteri. Tanin memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mengerutkan dinding sel itu sendiri, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan terhambat atau bahkan mati. Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut [3].

METODE PENELITIAN

Alat

oven, autoclave, incubator, lemari pendingin, neraca analitik, *rotary evaporator*, blender, neraca kasar, mat pipet, mikropipet, jarum ose, jangka sorong, pinset, aluminium foil, cawan petri, lampu Bunsen, *chamber*, beaker gelas, gelas ukur, cawan porselen, krus porselen, tanur, batang pengaduk, tabung reaksi, Erlenmeyer dan *waterbath*.

Bahan

Bahan alam yang digunakan pada penelitian ini adalah daun mengkudu, air suling, *Nutrien Agar* (Merck), *Mueller Hinton Agar* (MHA), etanol, n-heksana, raksa (II) klorida, natrium hidroksida, iodium, bismuth (III) nitrat, besi (III) klorida, a-naftol, asam nitrat pekat, asam klorida pekat, asam sulfat pekat, timbal (II) asetat, asam asetat anhidrat, isopropanol, kloroform, methanol, benzene, serbuk magnesium, dan amil alkohol. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Propionibacterium acne*.

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Pereaksi Bouchardat

Ditimbang 4 g kalium iodida, lalu dilarutkan dengan air suling secukupnya, kemudian ditimbang 2 g iodida dan dilarutkan kedalam kalium iodida didalam labu terukur 100 ml, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 ml [4].

2. Pembuatan Pereaksi Dragendrof

Ditimbang 8 g Bismut (II), kemudian dilarutkan dalam 20 ml asam nitrat pekat. Ditimbang 27,2 g kalium iodida, dan dilarutkan dalam 50 ml air suling kemudian dicampurkan kedua larutan dan diamkan sampai memisah sempurna. Diambil larutan jernih dengan menggunakan pipet tetes dan dimasukkan dalam labu tentukur 100 ml, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 ml, kemudian disimpan dalam botol gelap [4].

3. Pembuatan Pereaksi Mayer

Ditimbang 1,38 g Raksa (II), lalu dilarutkan dalam 60 ml air suling. Kemudian ditimbang 5 g kalium iodida, dan dilarutkan dalam 10 ml air suling. Kedua larutan dicampurkan dalam labu tentukur 100 ml dan dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 ml [4].

4. Pembuatan Pereaksi Molish

Ditimbang 3 g alfa naftol, kemudian dilarutkan dengan asam nitrat 0,5 N secukupnya dalam beakerglass kemudian dimasukan dalam labu tentukur 100 ml, lalu dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 ml [4].

5. Pembuatan Pereaksi Pb (II) asetat 0,4 N

Ditimbang 15,17 g timbal (II) asetat, lalu dilarutkan dengan air suling bebas CO₂ didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas [4].

6. Pembuatan Pereaksi NaOH 2N

Ditimbang 8 g kristal murni natrium hidroksida, dan dilarutkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas [4].

7. Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

Ditimbang 1 g besi (III) klorida, kemudian dilarutkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas [4].

8. Pembuatan Larutan H₂SO₄ 2N

Dipipet 18 ml asam sulfat pekat, kemudian diencerkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas [4].

9. Pembuatan Larutan HCL 2N

Dipipet 17 ml asam klorida pekat, kemudian diencerkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas [4].

10. Pembuatan Larutan HNO₃ 0,5N

Dipipet 44,7 ml asam nitrat pekat, lalu diencerkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas [4].

11. Pembuatan Larutan Kloralhidrat

Larutkan 50g kloralhidrat *P* dalam 20 ml air [4].

12. Pembuatan Larutan FeCl₃ 10%

Ditimbang 10 g besi (III) klorida, kemudian dilarutkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas [4].

13. Pembuatan Larutan asam sulfat 1%

Dipipet H₂SO₄ *P* sebanyak 0,05 ml kemudian dilarutkan dengan air suling 50 ml hingga tanda batas [4].

14. Pembuatan Larutan barium klorida 1,75%

Ditimbang 0,5 g besi (III) klorida, kemudian dilarutkan dengan air suling didalam labu tentukur 50 ml hingga tanda batas [4].

15. Pembuatan Larutan NaCl 0,9 %

Sebanyak 9 g NaCl ditimbang dan dilarutkan dengan air suling steril, sampai garis tanda, dimasukkan dalam Erlenmeyer steril yang tertutup kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit [4].

16. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Mengkudu Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne*

Uji daya hambat menggunakan metode difusi agar yaitu cakram. Sebanyak 1 ml suspensi dimasukkan kedalam cawan petri steril. Tuangkan 20 ml media MHA. Selanjutnya cawan digoyang diatas permukaan meja yang rata, agar media dan suspensi bakteri tercampur dengan rata. Diamkan hingga memadat, Kemudian diambil kertas cakram menggunakan pinset yang sebelumnya dipanaskan diatas api Bunsen. kertas cakram dimasukkan kedalam ekstrak daun mengkudu yang telah ditentukan konsentrasi yaitu 30%, 40%, 50%, DMSO sebagai kontrol negatif dan *Tetracycline* sebagai kontrol positif. Setelah itu diletakkan diatas permukaan media agar secara hati-hati menggunakan pinset dan ditandai setiap letak konsentrasi masing-masing. Lalu media diinkubasi dalam incubator dengan suhu 37⁰C selama 24 jam. Setelah itu diukur zona hambat yang terbentuk disekitar cakram menggunakan jangka sorong digital. Ditandai dengan zona bening disekitar cakram [5].

17. Uji Bioautografi

- Persiapan Fase Gerak (Eluen). Sebelum dilakukan pengelusan, Eluen yang digunakan yaitu kloroform dan n-heksan dengan perbandingan (5:5), (6:4), (7:3), (8:2), (9:1), (10:0) eluen yang berada dalam satu bejana dijenuhkan terlebih dahulu, setiap campuran fase gerak dimasukkan dalam chamber lalu tutup rapat dan dilakukan penjenuhan. Penjenuhan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bejana.
- Penotolan Sampel Fraksi. Sampel ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada plat KLT di masing-masing eluen perbandingan, Plat KLT dimasukkan dalam chamber dan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.
- Uji aktivitas bakteri bioautografi. Uji bioautografi dilakukan untuk mendeteksi senyawa aktif yang mempunyai aktifitas sebagai antibakteri. Sebanyak 1 ml suspensi dimasukkan kedalam cawan petri steril. Tuangkan 20 ml media MHA. Selanjutnya cawan digoyang diatas permukaan meja yang rata, agar media dan suspensi bakteri tercampur dengan rata dan diamkan hingga memadat. Kromatogram hasil pemisahan senyawa secara KLT diletakkan diatas medium yang memadat. Didiamkan selama 30 menit, lempeng kromatogram diangkat dan dikeluarkan dari medium. Selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37⁰C. disemprot Preaksi FeCl₃ 10% jika menghasilkan warna hitam/abu-abu menyatakan positif senyawa flavonoid [6].

HASIL DAN PEMBAHASAN**Hasil Pengolahan Sampel**

Berat basah daun mengkudu yang diperoleh adalah 5000 gram, setelah itu daun mengkudu dikeringkan dalam lemari pengering kurang lebih 2-3 agar didapat kering yang sempurna. Hasil yang diperoleh dari simplisia kering daun mengkudu adalah 900 gram. Kemudian dihaluskan diperoleh berat serbuk 900 gram.

Hasil Skrining Fitokimia

Berdasarkan hasil pemeriksaan skrining fitokimia dari serbuk dan ekstrak daun mengkudu menunjukkan bahwa daun mengkudu mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, steroid/triterpenoid, dan glikosida yang dibuktikan dengan menggunakan uji kimia.

Hasil Pengujian Bioautografi

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan lempeng KLT yang telah diberi tanda batas bagian bawah dan bagian atas lempeng sebagai tanda batas elusi. Jarak elusi yang dibuat 8,5 cm dengan harapan jarak ini cukup memisahkan senyawa-senyawa yang akan terelusi pada plat KLT.

Tabel 1. Data Hasil Kromatogram Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Mengkudu

No	Fase Gerak	Harga Rf
1	Kloroform : n-heksana = 6:4	0,17
		0,23
2	Kloroform : n-heksana = 7:3	0,17
		0,23
		0,32
		0,38

Hasil pengujian bioautografi menunjukkan bahwa fase gerak terbaik adalah perbandingan Kloroform: n-heksana 7:3 yaitu diperoleh 4 noda. eluen yang baik ditandai dengan banyaknya spot yang muncul, spot yang berbentuk tidak berekor, dan jarak antara satu spot dengan spot yang lain jelas. Selanjutnya dilakukan pengujian bioautografi yang merupakan pengujian lanjutan. Pada penelitian ini digunakan metode bioautografi kontak, metode ini menjadi pilihan karena mempertimbangkan sederhana dalam pengerjaan, dan hasilnya lebih jelas terlihat. Bioautografi kontak diperoleh proses perpindahan senyawa aktif ke dalam medium agar dapat menghasilkan zona hambatan dan kemampuan membedakan antara senyawa aktif dengan nilai Rf yang sama. Lempeng yang telah dielus dikontakkan dipermukaan media padat berisikan suspensi bakteri *propionibacterium acne* selama 30 menit. Lempeng kemudian diangkat dari media dan media diinkubasi selama 18-24 jam, sehingga diperoleh zona hambatan.

Hasil Pemeriksaan Penghambatan Pertumbuhan Bakteri

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *propionibacterium acne* menggunakan metode difusi agar yaitu kertas cakram. Dasar pemilihan metode ini adalah karena cepat, mudah dan sederhana dalam pengerjaannya dan tidak memerlukan peralatan yang khusus.

Tabel Hasil Zona Hambat Pertumbuhan bakteri

Sampel uji	Kosentrasi (%)	Zona Hambat (mm)			Rata-rata zona hambatan (mm)
		Replikasi			
		1	2	3	
Kontrol Negatif	-	0	0	0	-
Ekstrak Etanol Daun Mengkudu	30%	9,4	8,2	7,5	8,36
	40%	10,6	10,2	10,1	10,3
	50%	11,2	11,0	11,1	11,1
Kontrol Positif	-	21,3	20,8	20,3	20,8

Hasil pemeriksaan penghambatan pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu dengan kosentrasi 30%, 40%, dan 50% masing-masing memiliki zona hambatan terhadap bakteri *propionibacterium acnes*. Diameter zona bening rata-rata yang terbentuk disekitar kertas cakram pada masing-masing kosentrasi yaitu: 30% (8,36 mm), 40% (10,3 mm), 50% (11,1 mm). Masing-masing kosentrasi yaitu 50% dan 40% memiliki respon hambatan yang dikategorikan kuat. Sedangkan pada kosentrasi 30% memiliki respon hambatan sedang. Zona hambatan terbesar dihasilkan pada ekstrak dengan kosentrasi 50% dan 40% lalu kembali menurun daya hambatnya pada kosentrasi 30%.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acne*, dengan aktivitas penghambatan bakteri paling tinggi pada kosentrasi 50%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hartanti (2020). *Herbal, Sayur dan Buah Ajaib*. Yogyakarta: Trans Idea Publishing. Hal 41-45.
- [2] Afifi, Ruhana. (2018). *Uji Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat Propionibacterium acne Secara In Vitro*. Ciamis: Universitas Galuh. Hal 11.
- [3] Maya, D. (2014). *Uji Efektivitas Bawang Putih Terhadap Bakteri Propionibacterium acnes Secara In Vitro*. Jakarta : UIN. Hal 32-34.
- [4] Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 516-519.
- [5] Irianto, Koes (2014). *Bakteri Medis, Mikologi Medis, dan Virologi Medis (Medical Bacteriology, Medical Micology, and Medical Virology)*. Bandung: Alfabeta CV.
- [6] Sari, Permata. (2015). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Butoh Keling (Holothuria leucospilota) DisariPulau Lemukutan Terhadap Bakteri Propionibacterium acne dan Staphylococcus Epidermis*. Pontianak: universitas Tanjungpura. Hal 21-25.