Jurnal Analis Laboratorium Medik, 30/11 (2016), 12-18

IDENTIFIKASI SENYAWAANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL BUNGA KEMBANG SEPATU *(Hibiscus rosa –sinensis* L. *)* TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC25923 DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI

Sarma

Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Jakarta II

ABSTRAK

Penggunaan bahan alam yang memiliki khasiat sebagai obat merupakan upaya dalam penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapinya, jauh sebelum menggunakan obat moderen. Pengetahuan tentang obat tradisional ini merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman yang secara turun temurun telah diwariskan oleh nenek moyang dari generasi terdahulu kegenerasi selanjutnya. Untuk mengetahui aktivitas antimikroba dalam ekstrak etanol, fraksi *n* – heksan, dan fraksi etilasetat bunga kembang sepatu terhadap, bakteri *Staphylococcu aureus* ATCC 25923. Aktifitas antimikroba dalam ekstrak fraksi etil asetat bunga kembang sepatu. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak n-hexan dan ekstrak etanol tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri S*taphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etilasetat bunga kembang sepatu diameter hambat dengan konsentrasi 50 % , 25 % ,12,5 % dan 6,25 % terlihat bahwa ekstrak tersebut mempunyai daya antibakteri , ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk pada bakteri S*taphylococcus aureus* ATCC 25923. Ekstrak etil asetat bunga kembang sepatu pada konsentrasi 50% mampu memberikan diameter daerah hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dengan 3x pengulangan (12,5mm). Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar menunjukkan bahwa ekstrak yang aktif sebagai anti bakteri adalah ekstrak frkasi etil asetat, ekstrak etanol sedangkan ekstrak fraksi *n* – heksan tidak aktif. Diameter daerah hambat ekstrak fraksi etilasetat lebih besar dari ekstrak etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.*

Kata kunci: antimikroba, ekstrak etanol, metode KLT Bioautografi

PENDAHULUAN

Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi diantaranya adalah *Staphylococcus aureus, Bacillus substilis dan Candida albicans.* Bakteri dapat menyebabkan infeksi secara lokal maupun sistemik. Secara umum penyakit infeksi dapat disembuhkan dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik untuk infeksi lokal telah dikurangi karena cenderung menimbulkan hipersensitivitas secara lokal pada kulit atau membran mukosa (Ganiswara 1995) Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat infeksi kulit seperti bisul adalah Bunga kembang sepatu *(Hibiscus rosa - sinensis* L.*).* Pada berbagai literatur disebutkan bahwa tanaman kembang sepatu, khususnya bagian bunga dapat digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit infeksi. Tanaman ini diketahui mengandung saponin, tanin, alkaloid, quersetin, polifenol. (Daniel 2006, Shiel 2012, Kumar & Singh 2014). Quersetin merupakan senyawa flavonoid yang diduga memiliki aktifitas sebagai antimikroba. Bisul merupakan penyakit yang ringan tapi sangat mengganggu. Penyebab penyakit bisul adalah *Staphylococcus aureus.* Bisul merupakan gangguan pada kulit akibat terjadinya infeksi pada kantung rambut kulit kita. bibit penyakit berkembang biak dan bersarang didalamnya.

Dalam usaha memperoleh zat aktif yang terkandung dalam suatu simplisia, dilakukan proses ekstraksi terhadap bahan tersebut.Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan suatu zat dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut (Depkes RI 1995) Pelarut yang digunakan harus dapat mengestraksi zat yang diinginkan tanpa melarutkan senyawa lain nya sehingga zat aktif yang diinginkan dapat terekstraksi dengan sempurna. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Pemilihan metode ekstraksi merupakan hal yang penting untuk mendapatkan zat aktif dari suatu bahan Salah satu metode ekstraksi adalah *Sokletasi* (Depkes RI 2005,Goeswen 2008) Keuntungan sokletasi adalah dapat digunakan untuk penyarian pada tempratur tinggi, pelarut yang digunakan relatif sedikit, cocok untuk menyari zat dalam jumlah kecil pada simplisia. Kerugian dari metode *Sokletasi* adalah menggunakan peralatan khusus, biaya mahal.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antimikroba dalam ekstrak etanol, fraksi *n* – heksan, dan fraksi etilasetat bunga kembang sepatu terhadap, bakteri *Staphylococcu aureus* ATCC 25923. Manfaat peneltian ini Aktifitas antimikroba dalam ekstrak fraksi etil asetat bunga kembang sepatu. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

METODE PENELITIAN

Tanaman bunga kembang sepatu wama merah *(Hibiscus rosa - sinensis L)* dideterminasi dan terhadap serbuk simplisia dilakukan penapisan fitokimia. Selanjutnya simplisia diekstraksi dengan cara sokletasi menggunakan pelarut etanol 70 % ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotavapor* hingga diperoleh ekstrak kental. kemudian dilakukan penetapan kadar fenol dan flavonoid total sebahagian dari ekstrak etanol difraksinasi dengan polaritas berbeda, yaitu dengan n - heksan dan etil asetat.dan dan ekstrak yang didapat dari fraksi etil asetat dipekatkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dilakukan penapisan fitokimia, dan Ekstrak etanol, Fraksi n-hesan ,dan etil asetat diuji akvitas antibakteri dengan metode difusi cakram selanjutnya ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi di identifikasi menggunakan kromatografi lapistipis dan dilanjutkan dengan teknik bioautografi dan kromatografi gas-spektrometri massa.

Pengujian aktivitas antibakteri

Dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan aktivitas antibakteri yang berdifusi pada media agar yang telah ditanami bakteri. Aktivitas suatu senyawa ditunjukan dengan ada atau tidaknya zona hambat pertumbuhan bakteri. Pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATTC 25923, *Bacillus subtilis,* dan *Candida Albicans*. Dilakukan pada ekstrak etil asetat,

dan dilarutkan dalam DMSO (*dimethil sulvoxid oxide)* dibuat dalam 4 variasi konsentrasi yaitu 50, 25, 12,5 dan 6,25% setelah terlebih dahulu dilukukan uji orientasi.

Pengujian senyawa aktif dengan metode Bioautografi

Metode bioautografi adalah metode untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari suatu zat. Metode ini merupakan penggabungan teknik kroma tografi lapis tipis dengan respon dari mikroorganisme. Prinsip metode ini adalah menempelkan langsung kromatogram yang ditampaknya bercak dan diukur hRfnya pada medai yang telah terinokulasi bakteri uji, kemudian medai tersebut diinkubasi dalam jangka waktu tertentu dan diamati hasilnya.

Sampel fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas anti bakteri yang terbesar dianalisis dengan bioautografi. Prinsipnya : menempelkan langsung kromatogram pada media yang telah terinokulasi mikroba uji pada media tersebut dalam jangka waktu tertentu dengan kromatogram yang ditampakkan bercaknya dan diukur hRf bercak yang menunjukkan efek antimikroba.

Identifikasi senyawa aktif dengan metode GCMS

Hasil Bioautografi diuji dengan menggunakan kromatografi gas - spektro massa (GCMS) kromatogram dalam bentuk pita yang diperoleh dari hasil analisis dikerok kemudian di ekstraksi dengan pelarut kloroform dan dilihat senyawa aktifnya berdasarkan nama senyawa kimianya. Pengujian dilakukan dengan cara mengatur kondisi alat kromatografi gas – Spektro Massa (GCMS).

HASIL PENELITIAN

Ekstrak Etanol Bunga Kembang Sepatu

250 g serbuk bunga kembang sepatu diekstraksi dengan etanol 70% dengan metode sokletasi dan diuapkan pada rotary evavorator sehingga diperoleh ekstrak kental yaitu 75,0 g dandi ftaksi dengan etilasetat diperoleh ekstrak kental 35,5 g serta rendemen nya masing masing 30,02% dan 14,2% Hasil ekstraksi dari bunga kembang sepatu dapat dilihat pada table V.1. Rendemen ekstrak etanol lebih tinggi dari pada ekstrak etilasetat, menunjukan bahwa lebih banyak senyawa bersifat polar terkandung di bunga kembang sepatu, dibandingkan dengan senyawa semipolar yang terlarut dalam etil asetat.

Tabel 1 Hasil Rendemen ekstraksi bunga kembang sepatu

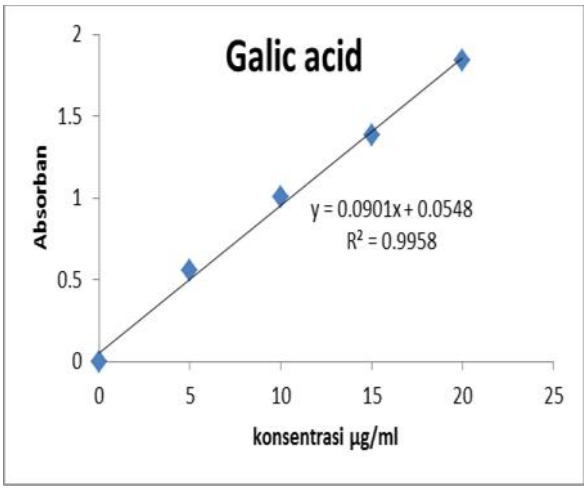
Ekstrak	Berat (gram)	Rendemen (%)
Etanol	75,0	30,2%
Etil asetat	35,5	14,2%

Rendemen dihitung dari 250 g bobot bunga kembang sepatu yang telah dikeringkan.

Hasil Pengukuran

Tabel 2 Uji total *Fenol* terhadap *Asam Galat* sebagai pembanding

Baku pembanding	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi pada 765 nm			
		A1	A2	A3	A rata2
Asam Galat	0	0.000	0.000	0.000	0.000
	5	0.528	0.568	0.565	0.554
	10	1.027	1.035	0.948	1.003
	15	1.408	1.424	1.323	1.385
	20	1.802	1.801	1.907	1.837



Gambar 3 Kurva Kalibrasi Asam Galat

UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI METODE DIFUSI CAKRAM

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak n-hexan dan ekstrak etanol tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri S*taphylococcus aureus* ATCC 25923, kemungkinan disebabkan ekstrak n-hexan dan ekstrak etanol mengandung senyawa steroid dan terpenoid sehingga yang me rnunjukan aktivitas antibakteri adalah ekstrak etil asetat

Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etilasetat bunga kembang sepatu diameter hambat dengan konsentrasi 50 % , 25 % ,12,5 % dan 6,25 % terlihat bahwa ekstrak tersebut mempunyai daya antibakteri, ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk pada bakteri S*taphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabel 3. Diameter daerah hambatan aktivitas antimikroba ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa –sinensis* L.) dengan metode difusi agar

Ekstrak uji 50%	Bakteri Uji	Diameter daerah hambat (mm)				
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	Streptomisin
Etanol	Staphylococcus aureus	7	6	6	6,3	
n- hexan		-	-	-	-	
Etil asetat		12,60	12,48	12,45	12,5	24,60

Tabel 4. Diameter daerah hambatan aktivitas antimikroba ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa –sinensis* L.) dengan metode difusi agar

Ekstrak uji 25%	Bakteri Uji	Diameter daerah hambat (mm)				
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	Streptomisin
Etanol	Staphylococcus aureus	-	-	-	-	
n- hexan		-	-	-	-	
Etil assetat		9,70	9,55	9,70	9,65	21,78

Tabel 5. Diameter daerah hambatan aktivitas antimikroba ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa –sinensis* L.) dengan metode difusi agar

Ekstrak uji 12.5%	Bakteri Uji	Diameter daerah hambat (mm)				
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	Streptomisin
Etanol	Staphylococcus aureus	-	-	-	-	
n- hexan		-	-	-	-	
Etil assetat		8,90	8,55	8,70	8,71	18,75

Tabel 6 Diameter daerah hambatan aktivitas antimikroba ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa –sinensis* L.) dengan metode difusi agar

Ekstrak uji 12.5%	Bakteri Uji	Diameter daerah hambat (mm)				
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	Streptomisin
Etanol	Staphylococcus aureus	-	-	-	-	
n- hexan		-	-	-	-	
Etil assetat		7,30	7,25	7,70	7,41	12,8

Hasil pengukuran daerah daya hambat dari ekstrak n- hexan, etil asetat, dan etanol bunga kembang sepatu menunjukkan bahwa ekstrak n-hexan dan etanol pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% tidak mempunyai aktivitas antibakteri baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.* Hal ini karna tidak adanya zona bening disekeliling kertas cakram dan sebagai kontrol positip adalah Streptomisin karna memiliki spektrum yang luas dan sebagai kontrol negative digunakan DMSO pada penelitian tidak memberi zona hambat jadi aman untuk digunakan Ekstrak etil asetat bunga kembang sepatu pada konsentrasi 50% mampu memberikan diameter daerah hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dengan 3x pengulangan (12,5mm). Sebagai konsentrasi bunuh maksimum dan dengan konsentrasi 6,25% konsentrasi hambat minimum nya adalah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (Ganiswara 1995,Wijayakusuma 1992) jika dibanding kan dengah Streptomisin menunjukkan diameter daerah hambat nya lebih besar dengan demikian ekstrak bunga kembang sepatu bersifat antibakteri bakteri.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak bunga kembang sepatu (Hibiscus rosa – sinensis L.)mengandung golongan senyawa flavonoid, Saponin, dan Tanin.
2. Kadar Total Fenol lebih kecil dari pada Flavonoid dalam ekstrak Etanol 70 % bunga kembang sepatu.
3. Bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas antimikroba dengan daerah hambat
4. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar menunjukkan bahwa ekstrak yang aktif sebagai anti bakteri adalah ekstrak frkasi etil asetat, ekstrak etanol sedangkan ekstrak fraksi *n* – heksan tidak aktif.
5. Diameter daerah hambat ekstrak fraksi etilasetat lebih besar dari ekstrak etanol terhadap bakteri Staphylococcus aureus.
6. Komposisi eluen yang dapat memberikan pemisahan yang baik adalah kloroform : Metanol dengan perbandingan **7:1.**
7. Terdapat hambatan pada Rf 0,625 (hRf 62,5) terlihat bercak warna kuning kecoklatan diduga adalah golongan senyawa *flavonoid*
8. Identifikasi dengan metode GCSM menunjukkan bahwa ektrak fraksi etil asetat yang paling aktif sebagai antibakteri diduga mengandung senyawa *pyrogallol, henecosan, napphthalene, phenol* dan 9 - *oktadecenamida.*

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi struktur molekul dengan metode spektrokopi yang lain seperti Kromaografi Cair Spektro - Massa (LCSM).
2. Aktivitas antibakteri bunga kembang sepatu perlu diuji secara invivo pada hewan coba untuk mengetahui khasiat farmakologi.
3. Perlu dilakukan pengujian terhadap bakteri gram negatif untuk mengetahui aktivitas antibakteri.
4. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai daya antibakteri diformulasi dalam bentuk sediaan farmasi sebagai obat tradisional.

DAFTAR PUSTAKA

Wijayakusuma H. Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia ,jilid I, JAKARTA : Pustaka Kartinin : 1992. h 9.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Materia Medika Indonesia. Jilid VI. Jakarta Direktorak Jendral pengawasan obat dan makanan h 1995, h 15, 324.

Ganiswara S, editor. Farmakologi Dan Terapi edisi 4 jakarta: Bagian Farmakologi FK UI : 1995 h 571-6.

Daniel M. 2006. Medicinal Plant Chemistry and Properties *Hibiscus rosa sinenssi L.* h160-1. Jersey: Science Publisher.

Shiel WC. 2012. Staphylococcus infection. http://www.medicinenet.com/staph_infection/article.htm#who_is_at_risk_for_staph_infections diakses pada tanggal 2 Maret 2013.

Kumar A , Singh A. Review on Hibiscus rosa sinenssi L . Diambil dari www,jjrpsonlini. Com. Diakses 15-juni 2014.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Panduan Teknologi Ekstrak, Jakarta,

Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan h 15-8. 2005.

Goeswin A. Teknologi bahan alam serial farmasi industry penerbit ITB Bandung h 31-,173, 174. 2008.