

**EKSTRAKSI DAN UJI MIKROBIOLOGI DAUN  
*Macaranga diepenhorstii* M.A. SEBAGAI  
SEDIAAN BARU OBAT ANTIBAKTERI  
ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian tentang kandungan kimia dan uji mikrobiologi dari ekstrak daun *Macaranga diepenhorstii* M.A. Pemeriksaan kandungan kimia ekstrak metanol memberikan hasil positif terhadap senyawa alkaloid triterpenoid/steroid, flavonoid dan fenol. Pemeriksaan uji mikrobiologi dengan metoda difusi agar memakai kertas cakram memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli*. Terhadap fraksi semua memperlihatkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri dimana daya hambat fraksi n butanol dan fraksi etil asetat lebih besar dari fraksi heksan.

**Pendahuluan**

Indonesia yang terdiri dari 17.500 buah pulau sangat kaya dengan keaneka ragaman hayati. Diperkirakan 17% dari seluruh spesies yang ada dipermukaan bumi terdapat di Indonesia, 11% merupakan spesies tumbuhan berbunga, 12% adalah spesies hewan (Supriatna, 1996). Kekayaan ini telah dimanfaatkan oleh nenek moyang bangsa Indonesia baik sebagai sumber pangan, perumahan, pakaian dan pengobatan. Keterampilan mereka dalam pengobatan menggunakan tumbuhan ini diwariskan kepada beberapa orang saja, yang dikenal sebagai dukun atau pawang. (Arbain, 1997).

Agar pengetahuan dan seni tentang pengobatan tradisional ini tidak hilang begitu saja, maka perlu dilakukan penelitian ilmiah baik melalui survey etnobotani, survey fitokimia dan uji aktifitas biologisnya. Senyawa aktif yang

terdapat dalam tumbuhan menyusun suatu kelompok besar senyawa organik yang dikenal dengan "Natural Product" yang tergolong pada metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan antara lain : alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, senyawa fenolik dan lain-lain (Rusdi, 1988).

Pencarian senyawa antibakteri masih diperlukan karena berbagai masalah seperti resistensi mikroba terhadap jenis-jenis antibiotika tertentu, disamping penyebaran penyakit infeksi di Indonesia masih sangat menonjol. Hal ini disebabkan karena Indonesia merupakan tempat yang subur bagi perkembangan mikroba (Dhanurtito, H, 1987).

*Macaranga diepenhortii* M.A adalah salah satu tumbuhan dari genus *Macaranga* famili Euphorbiaceae. Dari hasil penelitian kepustakaan belum ditemukan laporan tentang kandungan kimia maupun aktifitas biologis senyawa yang terdapat dalam tumbuhan ini. Dari genus yang sama yaitu : *Macaranga pleistomena* telah dilaporkan mengandung senyawa flavanon prenilat yang aktif sebagai antibakteri (Schutz B.A, Anthony, Topul, Otto S, 1995) dan tumbuhan ini dipakai untuk anti inflamasi, luka potong dan kulit lepuh, dan juga untuk obat sakit kepala dengan cara memanaskan daun dan menempelkannya pada daerah kepala. Spesies lain *Macaranga vadeliana* dilaporkan mengandung senyawa vadelianin (Thoison, Edouar, F. Gueritte and Thierry S, 1991) yang secara tradisional digunakan oleh penduduk Melanesia di Kaleidonia Baru sebagai penghilang nyeri dan obat tonsil.

Dari penelitian yang dilakukan oleh Roslinda, dkk (1998) terhadap spesies *Macaranga javanica* (Bl) M.A ditemukan bahwa tumbuhan ini memberikan hasil positif terhadap senyawa fenol dan flavonoid dan pada pemeriksaan efek antibakteri dengan metoda difusi agar memakai kertas cakram didapatkan semua fraksi memperlihatkan daya hambat terhadap

pertumbuhan bakteri dimana fraksi n-butanol memperlihatkan daya hambat yang lebih besar dari fraksi etil asetat dan fraksi heksan.

Metoda yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol, kemudian difraksinasi dengan berbagai pelarut. Untuk uji bioaktivitas dilakukan uji antimikroba dengan memakai kertas cakram.

## **Metode Penelitian**

### **a. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

### **b. Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan adalah air suling, asam asetat, asam asetat anhidrat, asam klorida, asam sulfat pekat, besi (III) klorida, metanol, etanol, etil asetat, butanol, kloroform, piridin, logam magnesium, nutrien agar (NA) (Merek), bakteri uji (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, jamur uji (*Candida albicans*, *Trichophyton mentagraphites*) pereaksi Mayer, pereaksi Lieberman – Burchard. Peralatan yang digunakan adalah penangas air "rice cooker", alat destilasi, rotavapor, alat-alat gelas, lampu ultraviolet, kertas saring, timbangan gram dan analitik, oven, inkubator, antoclav, pembakar Bunsen, cawan petri, spektrometric 21 D.

## e. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Sampel penelitian adalah daun tumbuhan *Macaranga diephenhorstii* M.A yang diambil disekitar Kampus Universitas Andalas Limau Manis Padang, Sumatera Barat.

### 2. Pemeriksaan Kandungan Kimia

#### a. Pemeriksaan Alkaloid

Pemeriksaan alkaloid dalam tumbuhan *Macaranga diephenhorstii* M.A dilakukan dengan metoda Culvenor Fitzgerald (1963) dimana  $\pm$  4 g sampel dipotong halus, digerus dalam lumpang dengan bantuan pasir bersih dibasahi dengan 10 ml kloroform, ditambahkan 10 ml kloroform ammonia 0,05 M, digerus kembali, disaring kedalam tabung reaksi, tambahkan 10 tetes asam sulfat 2N, dikocok, diamkan sebentar dan ambil lapisan asam, tambahkan pereaksi Mayer. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya kekeruhan atau endapan putih yang nyata.

Pemeriksaan keberadaan metabolit sekunder lain dilakukan menurut metoda Simes *et al* yang telah dimodifikasi (Nordin *et al*, 1995), dimana 20 g sampel segar dirajang halus dan dimasukkan dalam erlemeyer 125 ml, kemudian kedalamnya ditambahkan 75 ml metanol dan dipanaskan selama 15 menit diatas penangas air. Filtrat disaring panas kedalam labu 100 ml dan dikeringkan menggunakan rotary evaporator. Sari pekat ini dikocok dengan campuran 4 ml air, dan 4 ml kloroform. Setelah dibiarkan sebentar kedua lapisan ini dipisahkan untuk pengujian selanjutnya.

**b. Pemeriksaan Steroid dan Terpenoid**

Diambil lapisan kloroform ditetaskan pada plat tetes dan dibiarkan kering. Tetaskan asam asetat anhidrat dan beberapa tetes asam sulfat pekat. Reaksi dinyatakan positif bila timbul warna merah untuk triterpenoid dan warna hijau untuk steroid. (pereaksi Liebermann - Buchard).

**c. Pemeriksaan Flavonoid**

Lapisan air sebanyak 0,5 ml diasamkan dengan asam klorida pekat kemudian ditambahkan serbuk logam magnesium. Perhatikan warna yang terjadi. Pemeriksaan ini disebut standinin test, untuk mengetahui adanya flavonoid.

**d. Pemeriksaan Saponin**

Lapisan air sebanyak 1 ml dikocok selama 1 menit. Bila ada saponin, maka akan terbentuk busa yang stabil selama 30 menit.

**e. Pemeriksaan Senyawa Fenolik**

Lapisan air ditetaskan ke plat tetes beberapa tetes. Tambahkan pereaksi besi (III) klorida, reaksi dinyatakan positif bila timbul warna hijau kehitaman ataupun ungu.

**3. Ekstraksi dan Fraksinasi**

**a. Ekstraksi**

Daun segar sebanyak 3 kg dipotong halus, dimaserasi dengan metanol 3 x 20 l masing-masing selama 5 hari, disimpan di tempat terlindung cahaya. Ekstrak metanol dipisahkan dengan cara penyaringan, dipekatkan *in vacuo* hingga diperoleh ekstrak kental ± 1 l.

#### b. Fraksinasi

Ekstrak kental metanol difraksinasi dengan menggunakan beberapa pelarut yang kepolarannya berbeda. Mula-mula ekstrak kental metanol ditambahkan air suling (kurang lebih 150 ml), kemudian diekstraksi dengan heksana (5 x 250 ml) dalam corong pisah. Fraksi heksan dipisahkan dan dipekatkan *in vacuo* didapat fraksi heksan berbentuk masa kental hijau. Selanjutnya fraksi air dikocok dengan etil asetat (5 x 250 ml), dipisahkan dan diuapkan didapat fraksi etil asetat. Terakhir fraksi air dikocok dengan n - butanol (5 x 250 ml) dipisahkan dan diuapkan, didapat fraksi n-butanol.

#### 4. Uji Aktifitas Antimikroba

##### **Persiapan alat dan bahan serta mikroba uji.**

##### a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat gelas terlebih dahulu dibersihkan atau dicuci dan dikeringkan dibungkus dengan kertas perkamen. Kemudian disterilkan menurut cara yang sesuai. Cakram ("reservoir"), cawan petri, media mikroba dan tabung reaksi disterilkan dengan autoclaf suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose pinset disterilkan dengan nyala bunsen

##### b. Pembuatan media pembedahan

Semua media dilarutkan atau dibuat dengan cara yang sesuai menurut brosur yang tertera pada masing-masing packing medium jadi, lalu kocok dan disterilkan dalam autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

- c. Pembuatan Suspensi mikroba uji  
Bakteri pada stok kultur diremajakan pada media agar miring, diambil dengan jarum ose dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl fisiologis sampai diperoleh kekeruhan atau turbiditasnya 25 % yang diukur dengan spektromik 21 pada panjang gelombang 580 nm.
- d. Inokulasi media pembedihan dengan mikroba uji  
Masing-masing suspensi bakteri uji dan jamur uji (T = 25%) diambil sebanyak 0,1 ml dengan pipet ukur steril, diletakkan di tengah cawan petri steril. Kemudian medium agar yang masih cair sebanyak 15 ml dituangkan kedalam cawan petri, digoyang hingga bercampur homogen dengan suspensi mikroba uji, kemudian dibiarkan memadat.
- e. Uji Aktifitas Antimikroba dari Sampel Hasil Ekstraksi, Fraksinasi  
Dengan mikropipet diambil 10 µl ekstrak (70 % dalam metanol), fraksi (40 % dalam metanol), ditetaskan pada kertas cakram steril dan ditanam pada media pembedihan. Inkubasikan pada suhu 35 - 37°C selama 24 jam. Hasil dibaca positif bila disekitar kertas cakram terdapat daerah bening tanpa pertumbuhan bakteri dan ukur daerah hambat dengan menggunakan jangka sorong.

### **Hasil dan Pembahasan**

Hasil pemeriksaan kandungan kimia ekstrak metanol daun *Macaranga diepenhorstii* M.A. memberikan hasil positif terhadap senyawa alkaloid triterpenoid/steroid, flavonoid dan fenol. Pada pemeriksaan uji mikrobiologi dengan metoda difusi agar memakai kertas cakram terhadap jamur tidak memberikan daya hambat. Terhadap bakteri memberikan daya hambat pada

pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*, *Bacillus substilis*, dan *Escherichia coli*.

Dalam penelitian ini sampel diekstraksi dengan pelarut metanol karena dapat melarutkan semua senyawa organik baik yang bersifat polar maupun non polar, kemudian difraksinasi berturut-turut dengan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda yaitu heksan, etil asetat dan n butanol. Dari uji mikrobiologi ketiga fraksi menunjukkan bahwa daya hambat pertumbuhan bakteri terhadap fraksi n butanol dan fraksi etil asetat lebih besar dari fraksi heksan.

### **Kesimpulan**

1. Berdasarkan analisis di atas dapat disimpulkan bahwa kandungan kimia ekstrak metanol dari daun *Macaranga diepenhorstii* M.A. adalah senyawa alkaloid, tripenoid/steroid, flavonoid dan fenol.
2. Pemeriksaan aktifitas anti bakteri dengan metoda difusi agar memakai kertas cakram memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*, *Bacillus substilis*, dan *Escherichia coli*
3. Hasil ekstraksi dengan pelarut metanol kemudian difraksinasi dengan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda yaitu fraksi heksan, fraksi etil asetat dan fraksi n butanol didapatkan semua fraksi memperlihatkan daya hambat dimana fraksi n butanol dan fraksi etil asetat memperlihatkan daya hambat lebih besar dari fraksi heksan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Arbain, D., 1997, "Hutan Sumatera, Dari Sumber Daya Alam Tradisional ke Sumber Daya Alam Ilmu Pengetahuan, Teknologi dan Ekonomi", Pidato Pengukuhan Guru Besar Tetap Pada Jurusan Farmasi FMIPA, UNAND Padang.
- Backer, C.A. and Bakhuizen van Den Brink, R.C., 1965, *Flora of Java*, Vol. II, N.V.P. Noordhoff, Groningen, The Netherlands.
- Culvenor, C.C.J and J.S Fitzgerald, 1963 *A Field Methods for Alkaloids Screening of Plants J. Pharm Sci* 52, 303-304.
- Dhanuirta, H., 1987, "Produksi Antibiotik di Indonesia". Prosiding Seminar Antibiotika, Bandung.
- Nugroho, E., 1973. Manulang, 1996, "Mikrobiologi Kedokteran, EGC", Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Rusdi (Penyunting), 1988, "Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat", Pusat Penelitian Universitas Andalas, Padang.
- Roslinda, 1997, Aktifitas Antimikroba Ektrak Daun *Macaranga javanica* (Bl) M.A (Laporan Penelitian Fakultas MIPA, UNAND, Padang).
- Roslinda, 1998, Isolasi Komponen Utama Fraksi Aktif Antibakteri dari Daun *Macaranga javanica* (Bl) M.A, Tesis Fakultas Pascasarjana, UNAND, Padang.
- Schutz, B.A. Anthony, Topul, Otto S., 1995, *Prenylated Flavanones from Leaves of Macaranga pleistemonia*, *J. Phytochemistry*, 40 (4), 1273-1277.
- Supriatna, J, 1996, *Legislation Overview of The Biodiversity Research and Collection in Indonesia with Emphasize on the Medicinal Biota*, dalam Proceeding of International Seminar on Tropical Rainforest Plants and Their Utilization for Development, University of Andalas, Padang.
- Thoisson, Edouar Hnawia F. Gueritte and Thierry S, 1991, *Vadelianin A, Hexahydroxanthene Derivative Isolated from Macaranga vadeliana*, *J. Phytochemistry*, 13 (4), 1439 - 1442.