

# Profil Kromatogram dan Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap Bakteri Penyebab Disentri dengan Metode Difusi Agar

MASAYU AZIZAH DAN SRI EKAWATI

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Petiwi Palembang, Sumatera Selatan, Indonesia

**Intisari:** Telah dilakukan penelitian tentang profil kromatogram dan uji aktivitas antibakteri dari beberapa fraksi ekstrak daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap bakteri penyebab disentri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil kromatogram dan uji aktivitas antibakteri beberapa fraksi ekstrak daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap bakteri penyebab disentri. Ekstrak kental diperoleh dengan metode maserasi dan kemudian di fraksinasi. Profil kromatogram dilakukan dengan cara pemisahan secara kromatografi lapis tipis dan aktivitas terhadap beberapa bakteri penyebab disentri dilakukan dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil kromatogram ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) didapatkan senyawa fenolik, flavonoid dan steroid. Pada fraksi air didapatkan senyawa fenolik dan flavonoid. Fraksi etil asetat didapatkan senyawa fenolik. Fraksi *n*-heksan didapatkan senyawa steroid dan terpenoid. Hasil diameter hambat bakteri tertinggi didapat pada fraksi etil asetat terhadap bakteri *Shigella boydii* ATCC 12985 dengan rata-rata 16,16 mm, 15,5 mm, 14,1 mm, dan 12,1 mm.

**Kata kunci:** kromatogram, aktivitas antibakteri, daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack)

**Abstract:** A research on the chromatogram profile and antibacterial activity of some fraction of the extract of *Murraya paniculata* (L.) Jack against the bacteria that cause dysentery. This study aimed to determine the profile of the chromatogram and antibacterial activity of some fraction of the extract of *Murraya paniculata* (L.) Jack against the bacteria that cause dysentery. Viscous extract obtained by maceration method and then fractionation. Profile chromatogram is done by thin layer chromatography separation and activity in case against several bacteria that cause dysentery performed by the agar diffusion method. The results showed that the profile of the chromatogram obtained *Murraya paniculata* (L.) Jack ethanol extract of phenolic compounds, flavonoids and steroids. In the water fraction obtained phenolic compounds and flavonoids. Ethyl acetate fraction obtained phenolic compounds. N - hexane fraction obtained steroid compounds and terpenoids. The results of bacterial inhibition highest diameter obtained in ethyl acetate fraction against bacteria *Shigella boydii* ATCC 12985 with an average of 16.16 mm, 15.5 mm, 14.1 mm and 12.1 mm.

**Keywords:** chromatogram, antibacterial activity, *Murraya paniculata* (L.) Jack

**Email:** zizaloeng@gmail.com

## 1 PENDAHULUAN

Disentri basiler adalah infeksi usus besar oleh kuman *Shigella*, yang hanya menimbulkan kerusakan di usus dan tidak menimbulkan kerusakan jaringan organ tubuh lainnya. *Shigella dysenteriae* atau *Shigella shigae* merupakan penyebab disentri paling ganas karena membentuk endotoksin yang sering menimbulkan epidemi hebat di daerah tropis dan subtropis (Soedarto, 2009). Setiap tahun penyakit disentri menjadi penyebab kematian satu juta orang di negara berkembang dan sebagian besar adalah anak-anak (Thompson, 2012).

Disentri basiler merupakan masalah kesehatan yang serius dan harus diberikan penanganan yang

tepat. Tindakan yang harus segera diberikan kepada penderita shigellosis adalah mencegah terjadinya dehidrasi, serta pemberian obat antibakteri sebagai terapi kausatif, akan tetapi dengan semakin banyaknya ditemukan kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik, pemakaian antibiotik harus semakin diwaspadai (Prihantoro dkk, 2006).

Oleh karena itu diperlukan modifikasi (struktur kimia), evaluasi dan alternatif (obat herbal) (Katzung, 2002). Beberapa tumbuhan yang memiliki efek sebagai antidisentri antara lain rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val) (Saptarina, 2014), herba meniran (*Phyllanthus niruri*) (Munfaati dkk, 2014), dan daun binahong (*Anredera cordifolia*) (Ainurrochmah dkk, 2013).

Pada penelitian yang dilakukan Gunardi dan Kartika (2007) dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) hasil penelitian menunjukkan bahwa, profil kromatogram ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) diperoleh 6 bercak dibawah sinar UV panjang gelombang 254 nm dengan warna biru gelap, biru, ungu, ungu jingga, hijau dan coklat. Aktivitas ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap *Escherichia coli* menunjukkan daya hambat pada konsentrasi 30% dan daya bunuh pada konsentrasi 40%.

Ekstrak daun kemuning mengandung metabolit sekunder seperti minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan damar yang mempunyai aktivitas biologis sebagai penenang (sedatif), pematirasa (anestesi), penurun panas (antipiretik), dan antibiotik terhadap *Sreptococcus aureus* (Dalimartha, 2002; Windono, 2002; Hendrik, dkk. 2002; Pudjiasuti, 2002; Wahyudi, 2002).

Di kalangan masyarakat telah banyak menggunakan tanaman herbal untuk mengobati penyakit disentri, salah satunya tanaman kemuning namun belum dilakukan penelitian secara ilmiah terhadap beberapa bakteri penyebab disentri, maka dari itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui secara ilmiah aktivitas antibakteri penyebab disentri serta senyawa apa saja yang terkandung didalam daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) dengan analisa kromatografi lapis tipis

## 2 METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan April 2016 sampai dengan Agustus 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Laboratorium Penelitian Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang.

### Alat dan Bahan

#### a. Alat

Alat yang digunakan antara lain seperangkat alat maserasi, seperangkat alat destilasi vakum, seperangkat alat rotari evaporator, corong pisah, corong kaca, vial, bunsen, cawan petri, timbangan analitik, gelas ukur, pipet tetes, tabung reaksi, beaker glass, pinset, erlenmeyer, jarum ose, kapas, kassa steril, alumunium foil, benang, gunting, spatel, jangka sorong, autoklaf, elektro thermal inkubator, kertas saring, kertas cakram, Laminer air flow, pipet kapiler dan spektrofotometer UV-Vis.

#### b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack), media Nutrient Agar (NA), tetrasiklin, etanol destilat, NaCl fisiologis 0,9%, n-heksan, etil asetat, etanol, aquadest, plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), reagen sitroborat, reagen  $FeCl_3$  1%, reagen vanilin asam sulfat, methanol, *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Shigella boydii* ATCC 12985.

### Prosedur Penelitian

#### a. Pengambilan Sampel dan Identifikasi Tumbuhan

Sampel berupa daun dari tanaman *Murraya paniculata* (L.) Jack, yang diperoleh dari sektaran kawasan jl. Ariodillah II, Palembang Sumatera Selatan dan identifikasi tumbuhan uji dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Padang, Sumatera Barat.

#### b. Ekstraksi dan Fraksinasi

1 kg daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) kemudian daun tersebut dirajang kecil-kecil masukkan kedalam botol maserasi berwarna coklat lalu tambahkan pelarut etanol hasil destilasi sampai sampel terendam semuanya dan disimpan ditempat gelap sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari, pisahkan ekstrak etanol dengan cara penyaringan dan ulangi proses perendaman. Penyaringan dilakukan sebanyak 3 kali. Maserat yang dihasilkan kemudian di kumpulkan. Maserat yang didapat dikentalkan dengan destilasi vakum dan rotari evaporator sehingga didapat ekstrak kental. Kemudian difraksinasi dengan n-heksan tambahkan aquadest 80 ml, akan didapat fraksi n-heksan dan fraksi air, fraksi n-heksan dipekatkan dengan destilasi vakum untuk menguapkan pelarutnya, sedangkan fraksi air difraksinasi dengan etil asetat, akan didapat fraksi etil asetat dan fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi air dipekatkan dengan destilasi vakum, hingga terbentuk ekstrak kental.

#### c. Kromatografi Lapis Tipis

Plat KLT dipotong berukuran  $1 \times 6$  cm, sebanyak 5 mg ekstrak kental dilarutkan dalam etanol destilasi kemudian ditotolkan pada lempeng KLT Silika gel. Plat dimasukkan ke dalam bejana pengembang yang berisi cairan pengembang yaitu eluen etil asetat dan n-heksan perbandingan 4:1. Kemudian dieluasi sampai batas 10 cm dari titik pusat awal penotolan. Setelah sampai batas, lempeng KLT diangkat dan dibiarkan mengering. Kemudian noda diamati secara visual di bawah sinar UV. Bercak yang nampak dihitung jumlah dan dilihat warna fluoresensi yang nampak. Setelah itu diukur harga Rf-nya, jumlah bercak menggambarkan banyaknya komponen se-

nyawa yang ada di dalamnya, harga Rf dan warna bercak dicocokkan dengan pustaka untuk mengetahui golongan senyawanya.

#### d. Pembuatan Larutan Uji Dan Larutan Kontrol

Pembuatan larutan uji ekstrak total, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air di buat masing-masing konsentrasi 40% b/v, 30% b/v, 20% b/v dan 10% b/v, kemudian larutan uji diatas diuji aktivitas antibakterinya. Sebagai parameter aktivitas antibakteri digunakan kontrol (+) dan kontrol (-). Larutan kontrol positif digunakan tetrasiklin, sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan etanol destilat yang merupakan pelarut yang digunakan sebagai pelarut untuk larutan uji dan larutan kontrol. Penggunaan pelarut etanol destilat ini dikarenakan etanol destilat merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan untuk setiap tingkat kepolaran dan cocok untuk kontrol yang digunakan dan etanol ini tidak bersifat desinfektan.

#### e. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang disterilkan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Untuk alat-alat gelas (tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, pipet) ditutup mulutnya dengan sumbat kapas yang dibaluti dengan kain kasa steril dan dibungkus dengan kertas perkamen, begitu juga dengan cawan petri dan corong. Kemudian semuanya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Pinset, jarum ose, dan kaca objek disterilkan dengan cara pemijaran dengan jalan melewatkan pada nyala api selama 20 detik (Dwidjoseputro, 1998).

#### f. Pembuatan Larutan Tetrasiklin

Tetrasiklin dibuat dengan konsentrasi 0,01% dalam etanol destilat sebanyak 50 ml digunakan sebagai pembanding antibakteri. Larutan ini dibuat menggunakan labu takar 50 ml.

#### g. Pembuatan Medium Pembenihan Nutrient Agar

Sebanyak 23 gram serbuk nutrient agar (siap pakai) dilarutkan dalam 1 liter air suling dan dipanaskan sampai mendidih sambil sesekali diaduk hingga homogen, lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Media nutrient agar dituangkan sebanyak 10 ml kedalam cawan petri dan 5 ml ke dalam tabung reaksi untuk agar miring, biarkan memadat dan simpan dalam lemari pendingin (Cappuccino, 2009).

#### h. Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri yang telah dimurnikan diinokulasi dengan bantuan jarum ose ke media agar miring, kemudian

diinkubasi pada suhu 36°C selama 24-48 jam hingga diperoleh pertumbuhan yang normal (Brooks dkk, 2013).

#### i. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Koloni diambil dari agar miring nutrient agar menggunakan jarum ose, lalu disuspensikan ke dalam pelarut NaCl 0.9 % sebanyak 5 ml dan kocok homogen dalam tabung reaksi. Kekeruhan suspensi mikroba uji diukur dengan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 580 nm dengan transmitan 25% (Cappuccino, 2009).

#### j. Uji Aktivitas Antibakteri

Teteskan suspensi bakteri sebanyak 2 tetes ke tabung reaksi yang berisi 10 ml media agar, lalu homogenkan, kemudian tuangkan di atas cawan petri yang berisi 10 ml media agar yang telah memadat, lalu ratakan. Cawan petri tersebut digoyangkan beberapa kali secara horizontal agar suspensi bakteri ini merata pada seluruh permukaan agar. Kemudian dibiarkan pada suhu kamar selama 15 menit (Cappuccino, 2009). Setiap bakteri uji ditempatkan pada 3 cawan petri untuk tiap larutan uji dan pengujian dilakukan sebanyak tiga kali (triplo). Cakram kertas yang telah disterilkan dicelupkan ke dalam masing-masing konsentrasi zat uji yang telah disiapkan kemudian diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Cawan petri nutrient agar diinkubasi kedalam inkubator pada suhu 37° C selama 48 jam. Kemudian diukur diameter zona bening (*clear zone*) yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

#### k. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa zona hambat terhadap bakteri uji, selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisa. Data hasil kromatografi lapis tipis disajikan dalam bentuk gambar.

## 3 HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Hasil kromatografi lapis tipis dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan beberapa fraksi daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985 diperoleh hasil sebagai berikut:

1. Pemeriksaan kandungan kimia daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) dengan penampang bercak pada KLT dapat dilihat ekstrak etanol mengandung fenolik, flavonoid dan steroid, fraksi air mengandung fenolik dan flavonoid,

fraksi etil asetat mengandung fenolik, dan fraksi n-heksan mengandung steroid dan terpenoid.

2. Sampel segar daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) 1 kilogram yang diekstraksi dengan pelarut etanol menggunakan metode ekstraksi secara maserasi diperoleh ekstrak kental etanol sebanyak 92,58 gram dengan rendemen sebesar 9,258%.
3. Hasil fraksinasi ekstrak kental etanol 74,41 gram daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) diperoleh fraksi kental n-heksan 13,75 gram, fraksi kental etil asetat 26,42 gram dan fraksi kental air 34,24 gram.
4. Hasil pengukuran diameter hambat ekstrak etanol daun terhadap kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985 pada konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Diameter hambat rata-rata dan standar deviasi dari ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985

Bakteri Uji	Zat Uji	Diameter Rata-rata (mm) ± SD
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	K (+)	20,8 ± 0,89
	K (-)	0 ± 0
	40%	12,46 ± 0,30
	30%	11,8 ± 0,40
	20%	10,76 ± 0,35
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	10%	8,66 ± 0,70
	K (+)	20,8 ± 0,50
	K (-)	0 ± 0
	40%	11,3 ± 0,70
	30%	13,06 ± 0,25
<i>Shigella boydii</i> ATCC 12985	20%	10,2 ± 0,34
	10%	8,9 ± 0,76
	K (+)	23,13 ± 0,30
	K (-)	0 ± 0
	40%	13,5 ± 0,34
	30%	12,1 ± 0,35
	20%	11,56 ± 0,32
	10%	10,4 ± 0,52

Keterangan: (+): Tetrasiklin, (-): Etanol Destilat

5. Hasil pengukuran diameter hambat fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985 pada konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Diameter hambat rata-rata dan standar deviasi dari beberapa fraksi daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985

Zat Uji	Kon-sentrasi (%)	Rata-rata (mm) ± SD		
		Fraksi Air	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksan
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	K (+)	21,16 ± 0,40	22,2 ± 0,41	20,5 ± 0,36
	K (-)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	40%	12,23 ± 0,66	13,73 ± 0,20	11,7 ± 0,17
	30%	11,53 ± 0,25	12,5 ± 0,25	10,56 ± 0,35
	20%	10,16 ± 0,32	11,8 ± 0,30	9,43 ± 0,47
	10%	9,16 ± 0,45	11,1 ± 0,26	8,2 ± 0,36
	K (+)	21,8 ± 0,45	22,9 ± 0,23	22,0 ± 0,49
	K (-)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	40%	13,4 ± 0,20	14,7 ± 0,17	12,4 ± 0,52
	30%	12,2 ± 0,50	12,8 ± 0,40	11,1 ± 0,47
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	20%	10,1 ± 0,45	11,9 ± 0,40	9,93 ± 0,23
	10%	8,5 ± 0,88	11,1 ± 0,26	8,5 ± 0,30
	K (+)	23,2 ± 0,36	23,86 ± 0,37	23,0 ± 0,26
	K (-)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	40%	14,26 ± 0,11	16,156 ± 0,25	13,7 ± 0,17
<i>Shigella boydii</i> ATCC 12985	30%	13,63 ± 0,37	15,5 ± 0,30	12,13 ± 0,37
	20%	11,5 ± 0,70	14,1 ± 0,36	11,23 ± 0,40
	10%	9,66 ± 0,37	12,1 ± 0,25	9,96 ± 0,28

Keterangan: (+) : Tetrasiklin, (-): Etanol Destilat

### Pembahasan

- a. Ekstraksi Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack)

Pada penelitian ini digunakan sampel segar daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack). Sampel segar digunakan untuk mencegah terjadinya perubahan kimia yang tidak diinginkan dari zat aktif selama proses pengeringan. Sebelum proses maserasi, daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) dirajang untuk membuka sel-sel daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) sehingga zat aktif yang terdapat di dalam sel-sel daun dapat tersari dengan lebih sempurna kedalam pelarut. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Cara maserasi dipi-

lih karena pengerjaannya mudah dan sederhana, dapat digunakan untuk sampel yang banyak, tidak memerlukan peralatan khusus serta tidak menggunakan panas sehingga baik untuk simplisia dengan zat aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan (Harbone, 1987).

Pada pengujian dengan KLT daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) menunjukkan bahwa ekstrak kental etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) mengandung senyawa fenolik, steroid dan flavonoid. Dilanjutkan pengujian fraksi air dengan menggunakan KLT daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) mengandung senyawa fenolik dan flavonoid, pada fraksi etil asetat mengandung senyawa fenolik dan pada fraksi *n*-heksan mengandung senyawa terpenoid dan steroid.

Maserasi sampel dilakukan didalam botol gelap dan tertutup untuk menghindari pengaruh oksidasi. Sampel dimaserasi sebanyak 3 kali, masing-masing selama 5 hari dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan adalah etanol hasil destilasi, etanol digunakan karena etanol adalah pelarut *universal* yang dapat menarik hampir semua komponen kimia yang terkandung dalam tumbuhan, baik yang bersifat polar, semipolar, atau non polar dengan harga yang relatif murah, dan tidak begitu toksik bagi peneliti bila dibandingkan dengan metanol. Maserat daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) yang diperoleh disaring dan dikumpulkan kemudian pelarutnya diuapkan dengan destilasi vakum, dilanjutkan dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut yang masih bersisa hingga terbentuk ekstrak yang kental.

Hasil ekstraksi sampel daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) segar sebanyak 1 kilogram didapat ekstrak etanol kental sebanyak 92,58 gram dengan persen rendemen sebesar 9,258% .

#### b. Fraksinasi Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack)

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan alat corong pisah dengan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu air, etil asetat dan *n*-heksan. Tujuan dari fraksinasi yaitu untuk memisahkan senyawa kimia berdasarkan kepolarannya (Djamal, 2010). Air akan menarik senyawa yang bersifat polar, etil asetat akan menarik senyawa semipolar dan *n*-heksan akan menarik senyawa nonpolar. Ekstrak kental etanol sebanyak 74,41 gram difraksinasi dan hasil fraksi kental air sebanyak 34,24 gram, fraksi kental etil asetat 26,42 gram dan fraksi kental *n*-heksan 13,75 gram.

#### c. Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah tetrasiklin. Tetrasiklin dibuat dengan konsentrasi 0,1%. Tetrasiklin dipilih karena termasuk golongan antibiotik yang bersifat bakteriostatik, berspektrum luas yang meliputi bakteri gram positif dan negative, aerobik dan anaerobik. Golongan tetrasiklin menghambat sintesis protein bakteri pada ribosomnya. Paling sedikit terjadi dua proses dalam masuknya antibiotik kedalam ribosom bakteri gram negative, pertama secara difusi pasif melalui kanal hidrofilik, kedua melalui system transpor aktif. Setelah masuk antibiotik berikatan secara reversible dengan ribosom 30 S dan mencegah ikatan tRNA-amino asil pada kompleks mRNA- ribosom. Hal tersebut mencegah perpanjangan rantai peptide yang sedang tumbuh dan berakibat terhentinya sintesis protein (Gan, 1987). Selain itu juga tetrasiklin merupakan ajuvan yang efektif, untuk disentri yang disebabkan oleh strain *Shigella* yang peka (Gan, 1987).

Sedangkan kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol destilat bertujuan untuk melihat ada tidaknya pengaruh pelarut dalam uji aktivitas. Selain itu juga sebagai pelarut zat uji dari ekstrak dan fraksi daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack).

#### d. Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri penyebab *dysentri basiller* yaitu bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985. Bakteri ini didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313 memiliki 10 serotipe, *Shigella flexneri* ATCC 12022 memiliki 6 serotipe dan *Shigella boydii* ATCC 12985 memiliki 15 serotipe. Bakteri ini memiliki sifat khas yaitu dalam pembentukan eksotoksin yang kuat (neurotoksin) yang dapat dibuat toksoid. Disamping itu juga terdapat pula suatu enterotoksin sehingga terjadilah disentri (Gupte, 1990).

#### e. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian diawali dengan proses sterilisasi alat-alat yang akan digunakan, sterilisasi bertujuan untuk membunuh bentuk hidup dari mikroorganisme dan menghindari kontaminasi mikroba. Sterilisasi alat-alat yang terbuat dari gelas digunakan autoklaf karena memiliki beberapa keunggulan seperti waktu sterilisasi yang singkat serta efektif untuk alat-alat gelas yang memiliki rongga. Setelah itu dilakukan peremajaan bakteri uji. Peremajaan bakteri bertujuan untuk mendapatkan bakteri yang aktif dan mencegah kerusakan bakteri.

Selanjutnya pembuatan bakteri uji dengan cara melarutkan NaCl 0,9% dengan bakteri uji. Hal ini bertujuan untuk mengencerkan bakteri uji yang pekat sehingga bakteri dapat menyebar ke dalam media agar dengan sempurna dan homogen. Penggunaan NaCl 0,9% bertujuan agar pada proses pengenceran tekanan osmosa sel-sel bakteri sama dengan tekanan osmosa cairan tubuh, sehingga tidak terjadi kematian sel (lisis).

Kekeruhan suspensi bakteri diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 580 nm dengan transmitansi 25 % untuk bakteri. Pengukuran ini bertujuan untuk menghomogenkan jumlah koloni bakteri yang digunakan dalam setiap cawan petri pada tiap-tiap pengujian. Suspensi bakteri digunakan sebanyak 2 tetes ke dalam 10 ml media yang telah cair. Kekeruhan suspensi bakteri diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 580 nm dengan transmitansi 25 % untuk bakteri. Pengukuran ini bertujuan untuk menghomogenkan jumlah koloni bakteri yang digunakan dalam setiap cawan petri pada tiap-tiap pengujian. Suspensi bakteri digunakan sebanyak 2 tetes ke dalam 10 ml media nutrisi agar.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar. Metode ini dipilih karena memiliki beberapa keunggulan dibanding metode lainnya seperti peralatan yang digunakan relatif sederhana serta pengamatan diameter hambat (*clear zone*) yang mudah. Media yang digunakan adalah media nutrisi agar karena merupakan media selektif karena komposisi yang terdapat di dalamnya sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan bakteri uji yang merupakan bakteri gram negatif.

Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan beberapa fraksi (fraksi air, etil asetat dan n-heksan) terhadap ketiga bakteri uji dengan konsentrasi 40%, 30%, 20%, dan 10% secara deskriptif menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat (*clear zone*). Hasil pengukuran daya hambat aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313 dengan konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% berturut-turut sebesar 12,46 mm, 11,8 mm, 10,76 mm, dan 8,66 mm. Pada bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 berturut-turut 13,2 mm, 11,3 mm, 10,2 mm, dan 8,9 mm. Sedangkan pada bakteri *Shigella boydii* ATCC 12985 berturut-turut 13,5 mm, 12,1 mm, 11,56 mm, dan 10,4 mm.

Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shi-*

*gella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985 menunjukkan diameter hambat paling besar pada konsentrasi 40%, 30%, 20%, dan 10% terhadap bakteri *Shigella boydii* ATCC 12985 berturut-turut 13,5 mm, 12,1 mm, 11,56 mm, dan 10,4 mm. Hal ini disebabkan adanya beberapa golongan senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba. Berdasarkan penampakan bercak pada KLT ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) mengandung senyawa fenolik, steroid dan flavonoid.

Hasil pengujian uji aktivitas antibakteri dari fraksi air daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, dengan konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% berturut-turut sebesar 12,23 mm, 11,53 mm, 10,16 mm, dan 9,16 mm. Pada bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 berturut-turut 13,4 mm, 12,2 mm, 10,1 mm, dan 8,5 mm. Sedangkan pada bakteri *Shigella boydii* ATCC 12985 berturut-turut 14,26 mm, 13,63 mm, 11,5 mm, dan 9,66 mm. Berdasarkan penampakan bercak pada KLT fraksi air mengandung senyawa fenolik dan flavonoid.

Hasil pengujian uji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, dengan konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% berturut-turut sebesar 13,7 mm, 12,5 mm, 11,8 mm, dan 11,1 mm. Pada bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 berturut-turut 14,7 mm, 12,8 mm, 11,9 mm, dan 11,1 mm. Sedangkan pada bakteri *Shigella boydii* ATCC 12985 berturut-turut 16,16 mm, 15,5 mm, 14,1 mm, dan 12,1 mm. Berdasarkan penampakan bercak pada uji KLT fraksi etil asetat mengandung senyawa fenolik.

Hasil pengujian uji aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksan daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, dengan konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% berturut-turut sebesar 11,7 mm, 10,56 mm, 9,43 mm dan 8,2 mm. Pada bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 berturut-turut 12,4 mm, 11,1 mm, 9,93 mm dan 8,5 mm. Sedangkan pada bakteri *Shigella boydii* ATCC 12985 berturut-turut 13,7 mm, 12,13 mm, 11,23 mm dan 9,96 mm. Berdasarkan penampakan bercak pada KLT fraksi n-heksan mengandung senyawa steroid dan terpenoid.

Hasil uji aktivitas antibakteri dari beberapa fraksi (fraksi air, etil asetat dan n-heksan) daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985 menunjukkan diameter hambat yang paling besar dengan konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% pada fraksi etil asetat.

Pada fraksi etil asetat daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) memberikan efek paling besar terhadap *Shigella boydii* ATCC 12985. Hal ini terjadi karena *Shigella boydii* merupakan penyebab *dysentri basiller* yang paling ringan dan terdiri atas 15 serotipe yang sudah ditemukan (Gupte, 1990).

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985 menunjukkan fraksi etil asetat memberikan diameter hambat (*clear zone*) yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol. Berdasarkan uji fitokimia fraksi etil asetat mengandung senyawa fenolik.

Pada penelitian yang dilakukan Gunardi dan Kartika (2007) diketahui bahwa ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Eschericia coli* dengan KBM 40% b/v.

Selanjutnya penelitian ini dilanjutkan fraksinasi, hasil pengukuran diameter hambat uji aktivitas dari beberapa fraksi (fraksi air, etil asetat dan n-heksan) menunjukkan adanya aktivitas fraksi etil asetat yang bersifat semi polar yang lebih besar dari pada ekstrak etanol dengan konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% terhadap *Shigella boydii* ATCC 12985 berturut-turut 16,16 mm, 15,5 mm, 14,1 mm, dan 12,1 mm.

#### f. Senyawa Kimia Antibakteri

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa yang memberikan aktivitas antibakteri yang paling besar adalah fraksi etil asetat. Senyawa yang diduga sebagai antibakteri adalah senyawa fenolik (berdasarkan penampakan bercak pada KLT).

Fenolik merupakan senyawa yang mengandung fenol (senyawa turunan fenol) yang secara kimiawi telah diubah untuk mengurangi kemampuannya dalam mengiritasi kulit dan meningkatkan aktivitas antibakterinya (Pratiwi, 2008). Golongan fenol mampu merusak membran sel, menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan karena penurunan permeabilitas. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan terganggunya transportasi ion-ion organik yang penting ke dalam sel sehingga berakibat terhabatnya pertumbuhan bahkan hingga kematian sel (Damayanti dan Suparjana, 2007). Dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Dalam konsentrasi yang lebih rendah, fenol menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri (Oliver dkk., 2001). Flavono-

noid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar, terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6.C_3.C_6$ , yaitu 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon (Zaidan dan Djamil, 2014).

Menurut Hernani (2011), efek antibakteri disebabkan adanya flavonoid dengan mekanisme kerja dapat dibagi menjadi 3 yaitu, menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa (Cushnie, 2005).

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri, 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeal terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed, 2007).

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

## 4 SIMPULAN

Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol dan beberapa fraksi (fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan) daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) pada konsentrasi 40%, 30%, 20% dan 10% dapat menghambat bakteri penyebab penyakit *dysentri basiller* yaitu bakteri *dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985 dengan kandungan kimia fenolik, flavonoid.

## REFERENSI

- [1] Ainurrochmah, dkk. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anreder cordifolia*) terhadap Penghambatan

- Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya.
- [2] Brooks, dkk. 2013. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. Jakarta. EGC.
- [3] Cappuccino, James G. 2009. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta : EGC Medical Publisher.
- [4] Dalimartha. 2002. *Obat tradisional kemuning (online)*. (cited 2006 Dec 27; Available from : URL : <http://www.pdpersi.co.id>).
- [5] Djamal, Rusdi. 2010. kimia bahan alam: Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi Dan Identifikasi. Padang : Universitas Baiturahman.
- [6] Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Universitas Indonesia.
- [7] Gan, S. 1987. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi III, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Jakarta : Universitas Indonesia.
- [8] Gunardi, Kartika, D. 2007. Profil Kromatogram dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) Terhadap *Escherichia coli* secara In Vitro. Fakultas kedokteran Universitas Diponegoro.
- [9] Gupte, Satis. 1990. *Mikrobiologi dasar* (Edisi III). Jakarta: Bina Aksara.
- [10] Hendrik SB, dkk. 2002. Efek Analgesik dari Infusum (*Murraya paniculata* (L) Jack) Terhadap Respon Nyeri yang Diinduksi Asam Asetat. Surabaya : Farmakologi Universitas Airlangga.
- [11] Prihantoro, dkk. 2006. Efek antibakteri Ekstrak kulit Buah Delima (*Punica Granatum*) Terhadap *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*.
- [12] Soedato DTM, Park. 2009. *Penyakit Menular Di Indonesia*. Jakarta : CV Sagung Seto.
- [13] Thompson, N. 2012. *Wabah Disentri Gaya Baru Ancam Dunia*. Diakses 1 November 2012 dari <http://www.jpnn.com>.