

PENAPISAN FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK  
ETILASETAT DAN N-HEKSAN DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* Linn)  
TERHADAP *Shigella flexneri* ATCC 12022

<sup>1)</sup>Nurul Nuraini, <sup>2)</sup>Hari Widada

<sup>1)</sup> Mahasiswa Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

<sup>2)</sup> Dosen Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah  
Yogyakarta

### INTISARI

Diare merupakan salah satu penyakit saluran pencernaan yang umum ditemukan. Penyakit diare dapat menjadi lebih parah jika terjadi diare berdarah atau shigellosis. Daun *Jatropha curcas* teridentifikasi mengandung senyawa tanin, alkaloid, steroid dan saponin yang mempunyai efek antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dan efektivitas antibakteri etilasetat dan *n*-heksan daun *Jatropha curcas* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022.

Daun *Jatropha curcas* diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etilasetat dan *n*-heksan. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan penapisan fitokimia dan uji KLT. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* menggunakan 5 konsentrasi yaitu 5%, 15%, 25%, 50% dan 75%. Kontrol positif menggunakan siprofloksasin 5 µg/ml. Diameter zona hambat yang terbentuk oleh ekstrak dibandingkan dengan diameter zona hambat Siprofloksasin.

Ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *Jatropha curcas* mengandung senyawa steroid, saponin dan tanin. Ekstrak etilasetat daun *Jatropha curcas* juga mengandung senyawa alkaloid. Aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *Jatropha curcas* terhadap bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 termasuk dalam kategori lemah.

**Kata Kunci :** Antibakteri, Ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *Jatropha curcas*, *Shigella flexneri*

## ABSTRACT

Diarrhea is a disease that commonly found in the digestive tract. A severe diarrhea is occurred when the blood was found in the stool (shigellosis). *Jatropha curcas* leaves identified containing some compounds such as tannin, alkaloid, steroid and saponin which has the effect of antibacterial. This assay aims to investigate the compounds and the antibacterial activity of ethyl acetat and n-hexane extract of *Jatropha curcas* leaves in inhibiting the growth of *Shigella flexneri* ATCC 12022.

*Jatropha curcas* leaves was extract using maceration method with ethyl acetat and n-hexane as the solvent. The extract was tested by TLC and phytochemical screening. Antibacterial activity assay was conducted by Kirby Bauer diffusion disc method using 5 concentration (5%, 15%, 25%, 50% and 75%). Ciprofloxacin 5mg/ml was used as positive control. The inhibition zone diameter of the extract was compared with the inhibition zone diameter of Ciprofloxacin.

The result showed that ethylasetat and n-hexane extract of *Jatropha curcas* containing steroid, saponin, tannin and alkaloid. The antibacterial activity of the extract as an inhibitor of *Shigella flexneri* ATCC 12022 growth had low activity.

**Keywords** : Antibacterial, extract etilasetat and n-hexane *Jatropha curcas* leaves, *Shigella flexneri* ATCC 12022

## Pendahuluan

Diare merupakan salah satu penyakit saluran pencernaan yang umum ditemukan (CDC, 2014). Frekuensi kejadian diare pada negara berkembang lebih banyak 2-3 kali lipat dibandingkan dengan negara maju (Simadibrata & Daldiyono, 2009). Penyakit diare dapat menjadi lebih parah jika terjadi diare berdarah atau disebut juga *Shigellosis* (Nafianti & Sinuhaji, 2005).

Diare merupakan salah satu penyakit saluran pencernaan yang umum ditemukan (CDC, 2014). Penyakit diare dapat menjadi lebih parah jika terjadi diare berdarah atau disebut juga *Shigellosis* (Nafianti & Sinuhaji, 2005). Penelitian yang dilakukan Herwana, *et al.*, (2010) pada Februari 2005 sampai September 2007 di Jakarta Selatan terhadap 612 anak usia 0-12 tahun yang mengalami diare menunjukkan 9,3% pasien disebabkan oleh

*Shigella* sp dan *Shigella flexneri* merupakan spesies yang paling sering ditemukan dengan prevalensi sebesar 63,2%.

Secara umum infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati dengan menggunakan antibiotik (Ashutoh, 2008). Banyak *Shigella* yang mengalami resisten terhadap antibiotik antara lain disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak tepat (Todar, 2009).

Oleh karena itu perlu adanya alternatif untuk mengatasi resistensi tersebut. Di Indonesia pemanfaatan daun *J. curcas*. sebagai antibakteri sudah banyak dilakukan. Daun *J. curcas* teridentifikasi mengandung senyawa tanin, alkaloid, steroid dan saponin (Akinpelu *et al.* 2009).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase (Nuria.,*et al.*, 2009).

Alkaloid dapat menghambat pembentukan peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel pada sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Siregar, 2012).

Steroid telah dilaporkan memiliki sifat antibakteri (Okwu, 2001). Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Mwime dan Damme (2011) menyatakan bahwa steroid yang merupakan golongan triterpenoid memiliki sifat antibiotik dan antifungi. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri, 2013).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membrane sel. Hal ini menyebabkan kematian sel (Nuria, *et al.*, 2009).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *J. curcas* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan tingkat konsentrasi 20% nilai DZI 18,125 mm, 40% nilai DZI 18,3 mm, 60% nilai DZI 18,375 mm, 80% nilai DZI 18,55 mm, dan 100% nilai DZI 18,675 mm (Hasibuan., 2016).

Pemanfaatan tumbuhan sebagai telah dijelaskan dalam Al-Quran surat An-Nahl ayat 11 yang artinya: “Dengan air hujan itu Dia menumbuhkan untuk kamu tanaman-tanaman; zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir”.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri daun *J. curcas*. Windarwati (2011) melakukan penelitian tentang fraksi etilasetat dari ekstrak daun jarak berpotensi sebagai zat antimikroba dengan diameter penghambatan terhadap *S. aureus*. Hasibuan (2016) melakukan penelitian tentang ekstrak etanol daun *J. curcas* terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasilnya ekstrak etanol daun *J. curcas* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan tingkat konsentrasi 20% nilai DZI 18,125 mm, 40% nilai DZI 18,3 mm, 60% nilai DZI 18,375 mm, 80% nilai DZI 18,55 mm, dan 100% nilai DZI 18,675 mm.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah oven, bejana maserasi, bejana KLT, blender (Philips<sup>®</sup>), cawan porselen, *Rotary evaporator* (IKA<sup>®</sup> RV10), waterbath (Memmert<sup>®</sup>), plat silica (E merck<sup>®</sup>), pipa kapiler, Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain oven (Memmert<sup>®</sup>), *blender* (Cosmos<sup>®</sup>), bejana maserasi, erlenmeyer 1000 mL (Pyrex<sup>®</sup>), corong kaca (Pyrex<sup>®</sup>), batang pengaduk, *vacuum rotary evaporator* (Yamato<sup>®</sup>), cawan penguap (Pyrex<sup>®</sup>), *water bath* (Memmert<sup>®</sup>), timbangan analitik (Mettler Toledo<sup>®</sup>), tabung reaksi (Pyrex<sup>®</sup>), penjepit dan rak tabung reaksi, cawan porselen, labu takar (Pyrex<sup>®</sup>), gelas ukur 100 mL (Pyrex<sup>®</sup>), gelas beker 100 mL dan 250 mL (Pyrex<sup>®</sup>), pipet tetes, pipet ukur (Pyrex<sup>®</sup>) jarum ose, bunsen, *Hot Plate*, autoklaf (ALP<sup>®</sup>), tip dan mikropipet (Transferpette<sup>®</sup>), cawan petri (Pyrex<sup>®</sup>), *Biological Safety Cabinet (BSC)* (Biobase<sup>®</sup>), lemari pendingin (LG<sup>®</sup>), jangka sorong (Mitutoyo<sup>®</sup>), dan Spektrofotometer UV-Vis mini-1240 (Shimadzu<sup>®</sup>).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun *J. curcas*, air suling (Brataco<sup>®</sup>), alumunium foil, span 80 (Brataco<sup>®</sup>), kertas cakram steril, aseton (Brataco<sup>®</sup>), Siprofloksasin 2mg/ml (Oxoid<sup>®</sup>), tween 80, kertas saring, etilasetat (Brataco<sup>®</sup>), *n*-heksan (Brataco<sup>®</sup>), pereaksi Mayer (Merck<sup>®</sup>), pereaksi Dragendorff (Merck<sup>®</sup>), asam klorida (HCl) pekat (Merck<sup>®</sup>), (FeCl<sub>3</sub>) (Merck<sup>®</sup>), Anhidrida asetat (Merck<sup>®</sup>), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (Merck<sup>®</sup>), Media *Mac Conkey* (Pronadisa<sup>®</sup>), (NaCl) 0,9%.

#### **Determinasi Tanaman**

Determinasi daun *J. curcas* dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM.

#### **Penyiapan Bahan**

Daun *J. curcas* yang sudah diperoleh dibersihkan, disortir, selanjutnya dicuci dan dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari yang ditutup kain hitam pada bagian atasnya sampai simplisia kering.

#### **Ekstraksi**

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia daun *J. curcas* yang sudah kering dihaluskan hingga memenuhi derajat halus yang sesuai. Serbuk halus 350 gram diekstraksi menggunakan etilasetat dan 250 gram serbuk diekstraksi menggunakan *n*-heksan dalam bejana dengan perbandingan antara serbuk simplisia dan pelarut adalah 1:7 b/v. Proses maserasi dilakukan selama 4 hari dan dilanjutkan remaserasi selama 2 hari. Sari diserkai dan ampas diperas menggunakan kain flanel dan kertas saring. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental.

#### **Analisis Kandungan Kimia Metode KLT**

Ekstrak kental yang diperoleh dari maserasi diencerkan dengan masing-masing pelarut, yaitu etilasetat dan *n*-heksan. Pada penelitian ini analisis dilakukan untuk memastikan adanya kandungan senyawa steroid yang terdapat dalam daun *J. curcas* secara kualitatif. Analisis kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* dilakukan dengan menggunakan fase diam silika GF<sub>254</sub> dan fase gerak *n*-heksan dan etilasetat (7:3) v/v. Totolan ekstrak *n*-heksan dan etilasetat daun *J. curcas* pada plat silika menggunakan pipa kapiler. Untuk mengidentifikasi senyawa golongan steroid pada ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* digunakan pereaksi semprot 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan anhidridaasetat (Mittal, 2013). Bercak yang dihasilkan pada KLT lalu dideteksi dengan sinar tampak, sinar UV<sub>254</sub>, dan UV<sub>366</sub>. Agar bercak pada lempeng KLT terlihat jelas dan menentukan senyawa yang terkandung pada ekstrak tanaman dapat digunakan beberapa larutan pereaksi semprot (Depkes RI, 1987).

#### **Pembuatan Kontrol Positif**

Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin. Siprofloksasin yang digunakan untuk pengujian adalah 5 µg/ml dengan konsentrasi 5 µg/ml untuk satu cakram kertas. Untuk memperoleh larutan uji tersebut, maka sebanyak 1 ml sediaan siprofloksasin 2 mg/ml dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml, kemudian ditambahkan air suling hingga volume mencapai 10 ml. Selanjutnya diambil 1 ml dan dimasukkan pada labu takar dan ditambahkan air suling hingga volume 10 ml. Diambil lagi 1 ml dan dimasukkan pada gelas ukur dan ditambahkan air suling hingga volume 4 ml.

### **Pembuatan Kontrol Negatif**

Kontrol negatif yang digunakan, yaitu campuran air suling dan tween 80.

### **Pembuatan Larutan Uji**

Larutan uji dibuat variasi konsentrasi 5%, 10%, 25%, 50%, dan 75% v/v. Sebelumnya masing-masing ekstrak ditambahkan tween 80 10% b/v. Ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* dibuat larutan induk dengan konsentrasi 75% dengan cara melarutkan 7,5 gram masing-masing ekstrak dengan air suling hingga volume 10 ml. Untuk membuat konsentrasi 50%, diambil 6,7 ml dari konsentrasi 75% dan ditambahkan air suling sampai 10 ml. Konsentrasi 25%, diambil dari 5 ml konsentrasi 50% yang ditambahkan air suling sampai 10 ml. Konsentrasi 15% , diambil dari 6 ml konsentrasi 25% yang ditambahkan air suling sampai 10 ml. Konsentrasi 5%, diambil dari 3,3 ml konsentrasi 15% yang ditambahkan air suling sampai 10 ml.

### **Pembuatan Media Agar**

Media agar yang digunakan berasal dari *Mac Conkey* yang dilarutkan dalam air suling. Sebanyak 20 gram serbuk agar *Mac Conkey* dilarutkan dalam 385 ml air suling. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alat gelas dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit. Kemudian media *Mac Conkey* tersebut dituangkan pada cawan petri dalam kondisi aseptik dalam *Laminar Air Flow* dan ditunggu hingga mengeras.

### **Preparasi Bakteri**

Bakteri *Shigella flexneri* diambil dengan menggunakan jarum ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl steril 0,9%. Kekekuran yang diperoleh kemudian disetarakan dengan standar *Mc Farland* 0,5 dengan bantuan spektrofotometer dengan absorbansi 0,08-0,1 yaitu setara dengan

jumlah pertumbuhan  $1,5 \times 10^8$  sel bakteri/mL. Setelah itu larutan suspensi bakteri tersebut diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan menggunakan nutrisi BHI dengan perbandingan 1 : 9 sambil dihomogenkan dengan vortex.

### **Uji Daya Antibakteri**

Suspensi bakteri yang terbentuk kemudian diusap secara merata pada cawan petri yang telah berisi media padat *Mac Conkey*. Selanjutnya cakram kertas berdiameter 6 mm yang steril direndam selama 10-15 di dalam masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 75%, 50%, 25%, 15% dan 5%. Sebagai kontrol positif digunakan siprofloksasin 5µg/disk, kontrol negatif yang digunakan adalah air suling, tween 80, dan campuran air suling dan tween 80 10% ditempelkan pada permukaan media agar. Perlakuan ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Selanjutnya diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Hasilnya dapat dilihat dengan terbentuknya diameter hambatan (DZI) di sekitar cakram kertas dan diukur menggunakan jangka sorong. Selanjutnya diameter hambatan dari masing-masing ekstrak dengan variasi konsentrasi tersebut dibandingkan dengan diameter hambatan yang terbentuk pada kontrol positif dan kontrol negatif.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Identifikasi Tanaman**

Determinasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *J. curcas* (*Jatropha curcas* L) yang termasuk dalam suku *Euphorbiaceae*.

### **Pembuatan Ekstrak**

Daun *J. curcas* yang digunakan untuk penelitian diambil dari daerah Wirosari, Grobogan, Jawa Tengah pada bulan

Agustus 2015. Daun *J. curcas* disortir, dicuci bersih dan dikeringkan dengan sinar matahari dan ditutup kain hitam selama 3-4 hari. Simplisia kering yang didapat kemudian diblender untuk meningkatkan luas permukaan bahan baku. Serbuk yang dihasilkan berwarna hijau kecoklatan. Ekstrak dipisahkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50<sup>0</sup> C agar senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun *J. curcas* tidak ikut menguap. Dari proses ekstraksi didapatkan ekstrak sebanyak 21 gram untuk pelarut etilasetat dengan ekstrak kental berwarna hijau pekat dan 9 gram untuk pelarut *n*-heksan dengan ekstrak kental berwarna hijau kekuningan. Hasil rendemen ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* bisa dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rendemen ekstrak kental

Sampel	Rendemen ekstrak kental
Daun daun <i>J. curcas</i> pelarut etilasetat	6%
Daun daun <i>J. curcas</i> pelarut <i>n</i> -heksan	3,6%

### Kromatografi Lapis Tipis

Pada pengukuran menggunakan lampu UV 254 nm bercak menunjukkan warna ungu, sedangkan pada pengukuran lampu 366 bercak berfluoresensi. Bercak pada ekstrak etilasetat menunjukkan Rf 0,52 dan pada *n*-heksan 0,50. Selanjutnya dilakukan penyemprotan dengan pereaksi *Liebermann-Burcard*. Pengamatan di bawah sinar UV 254 nm terlihat warna ungu dan di bawah sinar UV 366 nm terlihat bercak yang mengalami fluoresensi. Bercak pada ekstrak etilasetat menunjukkan Rf 0,52 dan pada *n*-heksan Rf 0,50.

**Tabel 2.** Nilai Rf Steroid ekstrak *n*-heksan dan etilasetat daun *J. curcas*

Bercak	Rf	Warna Hasil KLT	
		Tampak UV 254 nm	UV 366nm
A	0,52	-	0,52
B	0,50	-	0,50

Prinsip reaksi dalam mekanisme uji steroid adalah kondensasi atau pelepasan H<sub>2</sub>O dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen beserta elektronnya dilepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi (Siadi, 2012).

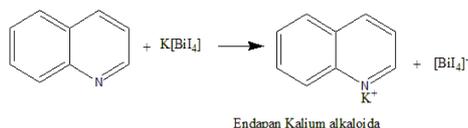
### Analisis penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas*. Pada uji keberadaan alkaloid, terlebih dahulu ekstrak dilarutkan dalam HCl. Alkaloid bersifat basa, sehingga penambahan HCl akan menyebabkan terbentuknya garam. Penambahan air suling bertujuan untuk melarutkan garam alkaloid dan pemanasan dilakukan untuk memecah alkaloid dengan asam klorida, sehingga diperoleh alkaloid yang bukan dari garamnya (Lilies & Nanik, 2012). Identifikasi alkaloid dilakukan dengan 2 pereaksi yaitu *Dragendorff* dan *Mayer*.

Hasil uji dinyatakan mengandung alkaloid apabila ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* yang direaksikan dengan pereaksi *Dragendorff* ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat muda sampai kuning, sedangkan apabila direaksikan dengan pereaksi *Mayer* akan membentuk endapan putih.

Dari hasil penapisan fitokimia yang dilakukan hanya ekstrak etilasetat daun *J. curcas* yang direaksikan dengan pereaksi *Dragendorff* menghasilkan endapan berwarna coklat. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tanaman, tetapi sering kali kadar alkaloid dalam jaringan tumbuhan kurang dari 1% (Kristanti, *et al.*, 2008).

Pada uji alkaloid dengan pereaksi *Dragendorff*, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $K^+$  yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji *Dragendorff* ditunjukkan pada gambar berikut ini :

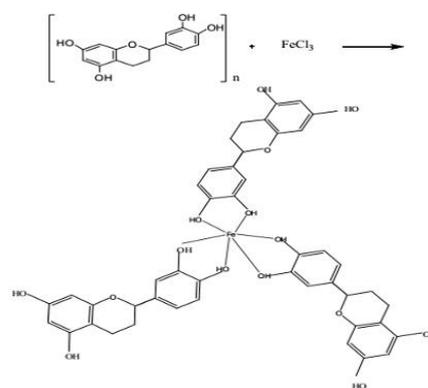


**Gambar 1.** Reaksi uji *Dragendorff* (Sumber: Miroslave, 1971)

Alkaloid dapat menghambat pembentukan peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel pada sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Siregar, 2012). Mekanisme lain alkaloid sebagai antibakteri yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Karou, 2005).

Pada percobaan identifikasi tanin menggunakan pereaksi besi (III) klorida.

Hasil yang diperoleh pada ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* positif mengandung tanin dengan memberikan warna hijau kehitaman. Terjadinya pembentukan warna hijau ini karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom nonlogam (Effendy, 2007). Terjadinya warna biru kehitaman menunjukkan adanya tanin galat sedang warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin katekol (Praptiwi, *et al.*, 2006). Pada penambahan larutan  $FeCl_3$  diperkirakan larutan ini bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Pereaksi  $FeCl_3$  dipergunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin (Robinson, 1995). Reaksi tanin dengan  $FeCl_3$  ditunjukkan pada gambar berikut :



**Gambar 2.** Reaksi perkiraan tannin dengan  $FeCl_3$  (Sumber: Soerya, *et al.*, 2005)

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria, *et al.*, 2009)

Identifikasi adanya saponin menggunakan uji *Forth* menunjukkan ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J.*



campesterol, 7-keto- $\beta$ -sitosterol, isovitoksin dan viteksin.

Steroid telah dilaporkan memiliki sifat antibakteri (Okwu, 2001). Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Mwime dan Damme (2011) menyatakan bahwa steroid yang merupakan golongan triterpenoid memiliki sifat antibiotik dan antifungi. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri, 2013).

### Uji aktifitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak yaitu 5%, 15%, 25%, 50%, dan 75%. Sebelumnya ekstrak ditambahkan dengan tween 80 10% agar bisa menyatu dengan air suling. Masing-masing variasi konsentrasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Metode yang digunakan untuk pengujian adalah metode difusi agar *Kirby Bauer*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri bisa dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Diameter zona hambat hasil pengujian

Bahan uji	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)
Ekstrak etilasetat	5%	1.26
	15%	3
	25%	4.4
	50%	6.2
	75%	7.7
Ekstrak <i>n</i> -heksan	5%	0
	15%	0
	25%	1
Siprofloksasin	50%	2.26
Air suling & tween 80	75%	3
	5 $\mu$ g/ml	22.5
		0

Pengujian antibakteri adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Dart, 1996). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* dengan konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50%, dan 75%. Dalam pembuatan larutan sampel dan variasi konsentrasi tersebut digunakan air suling. Sehingga perlu ditambah dengan 10% tween 80. Tween 80 memiliki HLB 15 bersifat hidrofilik, sehingga dapat membantu kelarutan ekstrak dengan air. Tujuan dibuat variasi konsentrasi untuk mengetahui perbedaan nilai diameter zona hambat antar perlakuan.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Kirby-Bauer*. Metode *Kirby-Bauer* digunakan untuk menentukan sensitifitas bakteri patogen, baik yang aerob maupun anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa antimikroba (Hudzicki, 2013). Pada penelitian ini, sebelum melakukan pengujian antibakteri, dilakukan pembuatan media *Mac Conkey* pada cawan petri yang selanjutnya diinokulasi dengan bakteri uji *Shigella flexneri* ATCC 12022. Penggunaan *Mac Conkey* sebagai media karena media ini spesifik terhadap bakteri gram negatif sehingga selain bakteri gram negatif tidak dapat berkembang (Hale & Keusch, 1996).

Untuk mengaplikasikan agen antibakteri digunakan cakram kertas yang mengandung sejumlah agen antibakteri yang dapat berdifusi ke dalam media agar ketika kontak dengan permukaan media. Selama inkubasi agen antibakteri berdifusi ke media agar dan menghambat pertumbuhan bakteri, menghasilkan zona inhibisi disekitar cakram kertas (Rahmah, 2012). Cakram kertas yang telah

diaplikasikan dengan masing-masing sampel selanjutnya akan mengabsorpsi air dari media agar dan agen antibakteri akan berdifusi ke dalam agar. Kecepatan difusi senyawa antibakteri dari sampel dalam agar tidak secepat keluarnya senyawa antibakteri dari cakram kertas karena tingkat difusi antibakteri dalam agar tergantung pada sifat difusi dan kelarutan antibakteri dalam media (Bauer, *et al.*, 1996).

Media yang telah diinokulasi dengan bakteri selanjutnya dilakukan aplikasi cakram kertas ke dalam media. Dan di inkubasi selama 24 jam untuk melihat zona hambat yang terbentuk. Selama inkubasi agen antibakteri berdifusi ke dalam media agar dan menghambat pertumbuhan bakteri (Rahmah, 2012).

Penelitian aktivitas antibakteri ini digunakan kontrol positif dan negatif sebagai pembanding. Kontrol positif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji (ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* dengan membandingkan diameter zona hambat yang terbentuk oleh zat uji dengan antibiotik. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 5 µg/ml. Siprofloksasin berguna dalam mengobati infeksi-infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Enterobacteriaceae* dan basil negatif yang lainnya (Mycek, 2001). Kontrol negatif yang digunakan campuran antara air suling dan tween 80, kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri siprofloksasin pada ketiga replikasi diketahui memiliki DZI rata-rata 22,5 mm. Menurut standar yang

dimuat di *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, antibiotik Siprofloksasin dikatakan sensitif apabila memiliki DZI lebih dari atau sama dengan 21 mm. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa antibiotik siprofloksasin yang digunakan masih dalam kategori sensitif. Mekanisme kerja Siprofloksasin sebagai antibakteri yaitu menghambat enzim DNA gyrase dan mengganggu aktivitas lain yang terkait dengan DNA pada bakteri (Prescott, *et al.*, 2005).

Selain itu hasil pengujian ekstrak etilasetat dan *n*-heksan mempunyai diameter zona hambat tertinggi 7,7 mm. Menurut Tabel 1 apabila diameter zona hambat kurang dari 15 mm, dikatakan kedua ekstrak lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri ATCC 12022*. Sehingga ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* tidak dapat digunakan sebagai rujukan pengobatan untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Shigella flexneri*.

Windarwati (2011) melakukan penelitian tentang fraksi etilasetat dari ekstrak daun jarak dengan diameter penghambatan terhadap *S.aureus* 12,5 mm. Sedangkan berdasarkan penelitian yang saya lakukan, ekstrak etilasetat daun *J. curcas* menghambat bakteri *Shigella flexneri ATCC 12022* dengan diameter tertinggi 7,7 mm. Meskipun kedua penelitian menunjukkan hasil diameter zona hambat dalam kategori lemah, namun fraksi etilasetat daun *J. curcas* mempunyai diameter zona hambat yang lebih tinggi dalam menghambat bakteri *S.aureus* dibandingkan ekstrak etilasetat daun *J. curcas* dalam menghambat *Shigella flexneri ATCC 12022*. Perbedaan diameter zona hambat pada kedua penelitian tersebut disebabkan karena bakteri uji

yang digunakan berbeda. Pada penelitian ini, bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 merupakan bakteri gram negatif sedangkan *S.aureus* merupakan bakteri gram positif. Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak etilasetat dan fraksi etilasetat lebih baik dalam menghambat bakteri gram positif.

Terlihatnya aktivitas penghambatan mikroba oleh suatu senyawa sangat dipengaruhi oleh konsentrasi bahan dan mikroba uji (Windarwati, 2011). Ketahanan suatu bakteri terhadap senyawa antibakteri berkaitan erat dengan struktur dinding selnya. Hasan, *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa senyawa aktif yang berasal dari tanaman sering menunjukkan aktivitas yang lebih baik terhadap bakteri gram positif tetapi tidak terhadap bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki *barrier* permeabilitas yang efektif. Adanya *barrier* permeabilitas inilah yang kemungkinan besar menyebabkan aktivitas antibakteri dari senyawa aktif ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* menjadi tidak cukup efektif.

Bakteri *Shigella flexneri* merupakan bakteri gram negatif, yang relatif lebih tahan terhadap senyawa antimikroba karena didukung oleh struktur ganda dinding selnya yang terdiri dari membran dalam dan membran luar. *Shigella flexneri* memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks yang terdiri atas beberapa komponen yaitu lipopolisakarida yang berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif antibakteri, membran luar yang mengandung molekul protein yang disebut porin, lipoprotein, dan lapisan dalam berupa lapisan peptidoglikan yang tipis dan fosfolipid (11-22%) (Brooks *et al.*, 2008).

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* dapat disimpulkan bahwa :

1. Pada analisis identifikasi menggunakan metode penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat daun *J. curcas* mengandung senyawa alkaloid, fenol, steroid, saponin dan tannin. Hasil berbeda ditunjukkan oleh ekstrak *n*-heksan daun *J. curcas* yang mengandung senyawa, steroid, saponin dan tanin.
2. Ekstrak etilasetat dan *n*-heksan daun *J. curcas* menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022. Tetapi diameter zona hambatnya dalam kategori lemah.
3. Diameter zona hambat ekstrak etilasetat daun *J. curcas* konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50% dan 70% terhadap bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 berturut-turut 1 mm, 2,6 mm, 3 mm, 4,4 mm, 6,2 mm dan 7,7 mm. Diameter zona hambat dari ekstrak *n*-heksan daun *J. curcas* konsentrasi 25%, 50% dan 70% terhadap bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 berturut-turut 1 mm, 2,26 mm dan 3 mm.

## Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji efektivitas antibakteri ekstrak *n*-heksan dan etilasetat daun *J. curcas* terhadap bakteri gram positif dan negatif lainnya.

2. Perlu dilakukan isolasi senyawa yang ada di dalam ekstrak *n*-heksan dan etilasetat daun *J. curcas* untuk mengetahui kadarnya dan efektivitasnya selain sebagai antibakteri.
3. Perlu dilakukan uji penapisan fitokimia lanjutan untuk mendeteksi senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak ekstrak *n*-heksan dan etilasetat daun *J. curcas*.

### Daftar Pustaka

- Akinpelu D.A., Kolawole D.O., (2004), Phytochemical and antimicrobial activity of leaf extract of *Piliostigma thonningii* (Schum), *Sci, Focus J. 7*: 64-70.
- Ashutoh, K., 2008, *Pharmaceutical Microbiology*, New Age International (Ltd: New Delhi).
- Brooks, Geo F; Butel, Janet S; Morse, Stephen A., 2008, *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*, EGC, Jakarta.
- Effendy., 2007, *Kimia Koordinasi Jilid I*, Malang:Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang (UNM).
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB Bandung. Bandung
- Hasan, N.A; Nawahwi, M.Z; Malek,H.A; 2013, Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* Seed Extract, *Sains Malaysiana* 42(2):143–7.
- Hasibuan, Siti Aminah. 2016. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun *J. curcas* (*Jatropha curcas* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Herwana, E; Indriani, N; Lesmana, M; Paul, B; Salim, O.C; Surjawidjaja, J.E; 2010, *Shigella*-Associated Diarrhea in Children in South Jakarta, Indonesia, *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2 (41): 418-25.
- Kristanti, A. N., N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi, 2008, *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press. Hal. 23, 47.
- Madduluri, Suresh. Rao, K. Babu. Sitaram, B. In Vitro Evaluation Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013:5(4):679-684.
- Marliana, D.S., Venty, S., dan Suyono,(2005), Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq.Swartz.) dalam ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*. 3(1):29
- Mwine, J. dan Damme, P.V. 2011. *Euphorbia tirucalli* L. (*Euphorbiaceae*) - The Miracle Tree: Current Status of Available Knowledge. *Scientific Research and Essay Journal*. 6 (23): 4905-4914.
- Nafianti, S., dan Sinuhaji, A.B., 2005, Resistensi Trimetoprim-Sulfametoksazol Terhadap Shigellosis. *Sari Pediatri*. 7 (1) : 39-44
- Nuria, M, C., Faizatun, A., Sumantri., 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *J. curcas* (*Jatropha curcas* Linn) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro*. Vol 5. No. 2, 2009 : 26-37.
- Okwu DE; Evaluation of the chemical composition of medicinal plants

- belonging to. Euphorbiaceae in Pakistan Veterinari. J., 2001; 14: 160-162.
- Oyi, A.R., Onaolapo J.A., Haruna A.K. dan Morah C.O. (2007). Antimicrobial screening and stability studies of the crude extract of *Jatropha curcass* Linn. Latex (Euphorbiaceae). *Nigerian Journal of Pharmaceutical Science* 6(2): 14-20.
- Praptiwi, Puspa Dewi dan Mindarti Harapini, "Nilai Peroksida Dan Aktivitas Anti Radikal Bebas Diphenyl Picril Hydrazil Hydrate (Dpph) Ekstrak Metanol Knema laurina", *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(1), 32 –36.
- Robinson T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: K. Padmawinata, Edisi IV, Bandung: ITB Press.
- Siadi, Kusoros., 2012, Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA* 35(1): 77-83.
- Sisunandar, Julianto, T., dan Yulia, D., 2002, Senyawa Antibakteri Pada Jarak Cina dalam *Proceeding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXII*, Purwokerto.
- Siregar, A. F., Sabdono A., Pringgenies D., 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Sthapylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of marine research*, (1): 152-160.
- Sriwahyuni, 2010, Uji fitokimia ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha Indica Linn*) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (*artemia salina leach*), *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Suharto, dan M.Agung, 2010, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponindari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (Musa paradisiacal var.sapientum.L)*. Manado: FMIPA Unsrat.
- Sumarni, Noneng, 2008, Efektivitas Tepung Daun Jarak (*Jatropha Curcass Linn*) Sebagai Anticacing *Ascaridia galli* dan Pengaruhnya terhadap Performa Ayam Kampung, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor.