

POTENSI FRAKSI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIRADIKAL DARI KULIT BATANG FALOOK (*Sterculia quadrifida* R.Br)

FX Haryanto Susanto

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang, Jawa Timur

Kata Kunci :

Kulit batang Faloak, aktivitas antibakteri, kandungan fenolat total, aktivitas antioksidan

ABSTRAK

Penduduk Nusa Tenggara Timur memanfaatkan kulit batang tumbuhan Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br.) sebagai tumbuhan obat untuk mengobati penyakit liver, gastroenteritis, dan penambah stamina. Kulit batang Faloak mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan menganalisis daya antibakteri dan antioksidan dari fraksi hasil pemisahan ekstrak etanol kulit Faloak. Fraksi 3 menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi (IC50) pada bakteri *B. subtilis* (90.51 µg/mL), *E. coli* (80.12 µg/mL), *S.aureus* (77,87 µg/mL), dan *S.thypi* (61.23 µg/mL). Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi 2 mempunyai aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total yang paling tinggi (34,16 ± 0,76 mg GAE)..

PENDAHULUAN

Indonesia secara geografis beriklim tropis dengan curah hujan rata-rata tinggi, terkenal memiliki beraneka ragam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia. Masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu telah mengenal tumbuhan yang mempunyai khasiat obat atau menyembuhkan berbagai macam penyakit. Tanaman yang berkhasiat obat tersebut dikenal dengan sebutan tanaman obat tradisional (1). Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) secara empiris dikenal sebagai tanaman obat yang banyak digunakan oleh masyarakat di daerah Nusa Tenggara Timur. Masyarakat Timor menggunakan air rebusan bagian kulit dari batang tumbuhan faloak untuk menyembuhkan penyakit hepatitis, gastroenteritis, diabetes dan rheumatoid arthritis (2).

Literatur menyebutkan, melalui uji golongan senyawa kimia menyatakan bahwa ekstrak aseton, etil asetat, metanol, dan n-heksana dari kulit batang tumbuhan faloak memiliki senyawa flavonoid, fenolik dan terpenoid (2). Penelitian ini diharapkan dapat memperjelas dan memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh ekstrak kulit batang faloak dengan melihat efek antioksidan dan efek antibakteri secara in vitro

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah vial, tabung ependorf, autoklaf (AC-300AE, Tiyoda Manufacturing Co. Ltd.), kotak aseptis, cawan petri, ose, plug, lampu Bunsen, shaking incubator, paper disc, microtiter plate 96-well, pinset, mikropipet, blue tip dan yellow tip, inkubator (Sakura, Jepang), oven, dan alat gelas (corong porselen, Erlenmeyer, chamber KLT, corong pisah, gelas ukur, pipet, dan cawan

porselen), lemari es, neraca analitik (BP221S), Laminar Air Flow cabinet (FARRco), vortex (Junke & Kunkel), spektrofotometer UV-VIS, blender, corong, Buchner, oven, mikropipet 10-1000 µL; 1-10 mL (Acura 825, Socorex), neraca analitik (Scaltec SBC 22, BP 160P), vacuum rotary evaporator (Junke & Kunkel), waterbath (labotech, Heraceus), tabung reaksi bertutup, dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium analisis (Pyrex-Germany dan Iwaki).

Bahan utama yang digunakan adalah kulit batang faloak, Muller Hinton, NA (*Nutrient Agar*), dan NB (*Nutrient Broth*). Mikroba uji berupa *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella thypi*, dan kontrol positif berupa streptomisin. Lempeng *silica gel* F₂₅₄ (E. Merck, Jerman), dan *Silica gel* 60 PF₂₅₄ untuk digunakan dalam KLT Preparatif. Pelarut ekstraksi (etanol), dan fase gerak untuk pemisahan dan pemurnian aquadest, metanol, n-heksana, kloroform dan etil asetat didapatkan dari E. Merck (Darmstadt, Jerman). Hidrogen peroksida, buffer fosfat, potasium ferrisianida, FeCl₃.

Prosedur Kerja

Ekstraksi

Kulit batang faloak sebanyak 3 Kg yang telah kering kemudian diserbuk, dilakukan maserasi selama 24 jam dengan menggunakan pelarut etanol 96% (perbandingan serbuk dan etanol 96% (1:3)). Dilakukan pergantian pelarut etanol 96% sebanyak 3 kali. Filtrat diperoleh dengan cara disaring dengan corong Buchner. Seluruh filtrat yang diperoleh diuapkan penyaringnya hingga kental dengan evaporator. Bobot ekstrak yang diperoleh adalah 100,7658 g dan rendemen yang diperoleh sebesar 3,35%.

Masuk 26-01-2019

Revisi 30-04-2019

Diterima 30-04-2019

Korespondensi

FX Haryanto Susanto

ro.llando@machung.ac.id

Copyright

© 2019 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas

Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal

30-04-2019

Dapat Diakses Daring

Pada:

<http://journal.unhas.ac.id>

[/index.php/mff](http://index.php/mff)



Fraksinasi Ekstrak Etanol secara KLT Preparatif

Fase gerak yang digunakan adalah kloroform: n-butanol: etil asetat dengan perbandingan (3:4:1,5) dalam memisahkan senyawa aktif ekstrak etanol 96%. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 PF254 khusus preparatif. Selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa aktif ekstrak etil asetat menggunakan KLT Preparatif. Kromatogram yang dihasilkan dideteksi dengan sinar tampak, sinar UV254, UV366 dan pereaksi semprot serum sulfat, kemudian ditandai. Bercak yang sudah ditandai masing-masing dikerok dan dikumpulkan, kemudian dilarutkan dengan larutan kloroform:metanol (1:1), disaring, dan dikeringkan

Skining fraksi aktif

Pengujian menggunakan aktivitas antimikroba dilakukan metode disc diffusion (Kirby-Bauer Test). Mikroba uji yang digunakan *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. thypi*. Dibuat seri konsentrasi fraksi uji 100; 50; 25; 12,5; dan 6,25 µg/µL. Sebanyak 10 µL senyawa uji dengan lima konsentrasi tersebut ditetaskan ke paper disc sehingga jumlah isolat pada setiap paper disc berturut-turut adalah 1000; 500; 250; 125; dan 62,5 µg. Sebelum ditempelkan pada media berisi bakteri uji, paper disc yang berisi senyawa ditunggu sampai kering, yang menandakan pelarutnya sudah menguap. Digunakan kontrol positif 10 µL streptomisin 10 mg/mL dan kontrol pelarut 10 µL etanol absolut steril (harus diuapkan). Kultur bakteri uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, diamati zona hambatan di sekeliling *paper disc*, dan diperoleh fraksi aktif.

Penentuan Inhibition concentration 50 (IC50) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) Fraksi (Penentuan Potensi Fraksi)

KHM ditentukan dengan metode mikrodilusi. Ke dalam sumur microtiter plate 96-well dimasukkan 50 µL media Muller Hinton, 50 µL suspensi mikroba uji yang telah disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 dan diencerkan (1:10) dan 100 µL fraksi aktif dengan seri konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; dan 3,91 µg/mL sehingga konsentrasi akhir larutan adalah 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; 3,91; dan 1,96 µg/mL. Sebagai kontrol fraksi, dimasukkan ke sumuran dengan mencampurkan 100 µL fraksi setiap konsentrasi dan 100 µL media tanpa bakteri, kontrol bakteri uji digunakan sebanyak 200 µL bakteri uji, dan kontrol positif digunakan larutan streptomisin 10 mg/mL sebanyak 100 µL dan bakteri uji sebanyak 100 µL.

Pengamatan dilakukan setelah inkubasi pada suhu 37 oC selama 18-24 jam. Densitas sel dihitung menggunakan instrumen microplate reader dengan pengukuran pada panjang gelombang UV pada 595 nm untuk mendapatkan absorbansi dari sel bakteri yang telah diberi perlakuan senyawa uji dan absorbansi sel bakteri yang tidak diberi perlakuan senyawa uji (kontrol). Nilai IC50 didapatkan dengan membuat grafik antara kadar isolat (absis) dengan persen penghambatan pertumbuhan bakteri (ordinat) dan dianalisis menggunakan metode Litchfield dan Wilcoxon (analisis probit).

Penentuan nilai KBM dilakukan dengan mengambil cairan dari tiap microtiter plate 96-well sebanyak 3 µL lalu digoreskan pada media NA steril tanpa penambahan mikroba dan senyawa uji. Goresan pada media NA yang terlihat setelah inkubasi (suhu 37 oC selama 18-24 jam) ditetapkan sebagai nilai KBM.

Determinasi kandungan fenolat total fraksi

Kandungan fenolat total dari tiap fraksi diestimasi menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan standar asam galat. Setiap fraksi dilarutkan dalam metanol (2 mg/mL) dan

ditambahkan dengan 500 µL reagen Folin-Ciocalteu (50%), kemudian ditambahkan dengan 2 mL Na2CO3 20%. Volume akhir sebanyak 5 mL dengan ditambah aquadestilata. Campuran didiamkan pada temperatur ruangan selama 20 menit kemudian di tetapkan absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Prosedur yang sama juga dilakukan pada standar asam galat dengan konsentrasi 15, 30, 45, 60, 75 µg/mL yang telah dilarutkan dalam metanol. Standar asam galat digunakan untuk membuat kurva standar kalibrasi. Diperoleh persamaan kurva baku total fenolik: $y = 0.0234x + 2.332$ with $R^2 = 0.9998$

Uji aktivitas antioksidan dengan metode peroksida

Kemampuan fraksi untuk menangkap hidrogen peroksida dilakukan berdasarkan metode yang disebutkan di dalam literatur (3). Larutan hidrogen peroksida (40 mmol/L) dibuat dengan menggunakan buffer fosfat (50 mmol/L, pH 7,5). Absorbansi hidrogen peroksida diukur pada panjang gelombang 230 nm menggunakan spektrofotometer. Fraksi dilarutkan dalam aquadestilata sehingga diperoleh konsentrasi 2 mg/mL. Larutan kemudian ditambahkan hidrogen peroksida dan ditetapkan absorbansinya pada panjang gelombang 230 nm setelah 10 menit. Larutan kontrol dibuat dengan mencampur buffer fosfat tanpa penambahan hidrogen peroksida. Persentase kemampuan fraksi dalam menangkap hidrogen peroksida dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Penangkapan H}_2\text{O}_2 (\%) = \left[\frac{A_i - A_t}{A_i} \right] \times 100$$

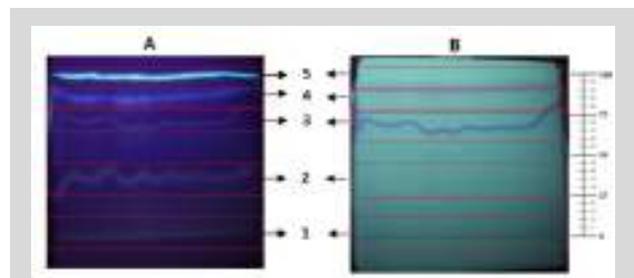
Ai: Absorbansi kontrol, At: Absorbansi sampel

Uji aktivitas antioksidan dengan penurunan reduksi

Potensi reduksi dari fraksi diukur menggunakan metode Oyaiju (4). Setiap fraksi dan standar (2 mg/mL) dalam 1 mL aquadestilata dicampur dengan buffer fosfat (2,5 mL, 0,2 mol/L, pH 6,6) dan potasium ferisianida (2,5 mL, 1% b/v). Setelah itu disentrifugasi selama 10 menit pada 3000 rpm. Ambil lapisan atas larutan (2,5 mL 1% b/v), kemudian dicampur dengan aquadestilata (2,5 mL) dan FeCl3 (0,5 mL, 0,1% b/v). Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 700 nm menggunakan spektrofotometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksinasi ekstrak etanol 96% menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), Kromatogram yang terdeteksi dibawah sinar UV254, UV366 dan deteksi dengan pereaksi serum sulfat kemudian dikelompokkan menjadi 5 fraksi seperti yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Profil Kromatogram KLT Preparatif

Keterangan gambar:

Fase diam silika gel 60 PF254 dan fase gerak kloroform: n-butanol : etil asetat (3:4:1,5). Visualisasi pemisahan fraksi secara KLT preparatif, yakni (A) kromatogram di bawah UV366, (B) UV254 nm. (1) fraksi 1, (2) fraksi 2, (3) fraksi 3, (4) fraksi 4, dan (5) fraksi 5.

Fraksi yang telah dikelompokkan kemudian dipisahkan secara hati-hati dengan cara dikerok dan serbuk silika disimpan pada tempat yang khusus sesuai penggolongan fraksi. Serbuk silika dilarutkan dengan kloroform : metanol (1:1) kemudian disaring dengan milipore dan diuapkan hingga kering. Fraksi ditimbang sehingga diperoleh rendemen fraksi dengan cara

membandingkan bobot fraksi terhadap ekstrak etil asetat seperti pada **Tabel 1**. Fraksi yang diperoleh kemudian diuji aktivitasnya terhadap bakteri uji.

Berdasarkan **tabel 2** menunjukkan bahwa fraksi 1, 2, dan 3 mempunyai aktivitas yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji dari pada fraksi 4 dan 5. Fraksi 1 menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *B. subtilis*, dan *E. coli* pada level konsentrasi tertinggi. Fraksi 2 mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*, *E. coli*, dan *S. thypi* tetapi tidak mempunyai aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Fraksi 3 mempunyai aktivitas terhadap bakteri *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, dan *S. thypi*.

Berdasarkan keseluruhan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri uji, fraksi 3 mempunyai aktivitas yang lebih besar daripada fraksi 1 dan fraksi 2. Namun, bila dilihat dalam sudut pandang skrining aktivitas antibakteri, maka ketiga fraksi tersebut mempunyai potensi untuk dilakukan uji aktivitas (secara mikrodilusi).

Tabel 1. Rendemen dan hRf Fraksi

Fraksi	hRf	UV 254	UV 366	Serium Sulfat	Rendemen (% b/b)*
1	0	Meredam	Berpendar biru	Coklat	5,76
2	45	-	Berpendar biru	Coklat	15,60
3	74	Meredam	Berpendar biru	Coklat	20,57
4	80	-	Berpendar biru	Coklat	19,09
5	100	Meredam	Berpendar hijau	Coklat	10,53

Keterangan: *Dihitung terhadap berat ekstrak etanol 96% = 20,1123 g

Tabel 2. Hasil Pengamatan Uji Disc Diffusion Fraksi terhadap Bakteri Uji

Fraksi	Loading (µg)	Zona Hambatan Pertumbuhan (mm)					
		<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. thypi</i>	K (+)	K (-)
1	62,5	ND	ND	ND	ND		
	125	ND	ND	ND	ND		
	250	ND	ND	5	ND	19	ND
	500	ND	2	5	ND		
	1000	5	4	7	ND		
2	62,5	ND	ND	ND	ND		
	125	ND	ND	ND	ND		
	250	ND	2	ND	5	18	ND
	500	ND	3	3	8		
	1000	ND	5	4	10		
3	62,5	2	ND	2	4		
	125	2	3	2	6		
	250	4	6	2	5	20	ND
	500	5	7	3	9		
	1000	9	9	7	11		
4	62,5	ND	ND	ND	ND		
	125	ND	ND	ND	ND		
	250	ND	ND	ND	ND	23	ND
	500	ND	ND	ND	ND		
	1000	ND	ND	ND	ND		
5	62,5	ND	ND	ND	ND		
	125	ND	ND	ND	ND		
	250	ND	ND	ND	ND	17	ND
	500	ND	ND	ND	ND		
	1000	2	ND	3	ND		

Keterangan: ND = not detected (tidak terdeteksi adanya aktivitas)

Tabel 3 menunjukkan bahwa fraksi 3 lebih aktif daripada fraksi 1 dan fraksi 2 pada bakteri uji *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. typhi*. Hal tersebut ditunjukkan dengan menganalisis nilai IC50. Misalnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. thypi*, fraksi 3 memerlukan konsentrasi 77,87 µg/mL dalam menghambat 50% pertumbuhan bakteri daripada fraksi 2 yang memerlukan konsentrasi lebih tinggi yaitu 345,82 µg/mL.

Fraksi 3 mempunyai kemampuan membunuh bakteri atau nilai kadar bunuh minimum yang lebih aktif daripada fraksi 1 dan fraksi 2 terhadap bakteri *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. typhi*. Misalnya dalam membunuh bakteri *E. coli*, fraksi 3 dapat membunuh 99,9% bakteri pada konsentrasi 500 µg/mL daripada fraksi 2, yaitu memerlukan dosis yang lebih tinggi dari 500 µg/mL.

Tabel 3. Nilai IC50 dan Nilai KBM Fraksi

BAKTERI	SENYAWA					
	Fraksi 1		Fraksi 2		Fraksi 3	
	IC ₅₀ (µg/mL)	KBM (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	KBM (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	KBM (µg/mL)
<i>B. subtilis</i>	123,76	>500	125,87	>500	90,51	500
<i>E. coli</i>	132,99	>500	113,76	>500	80,12	500
<i>S. aureus</i>	245,76	>500	345,82	>500	77,87	500
<i>S. typhi</i>	334,76	>500	103,65	500	61,23	500

Keterangan: ND = not detected (tidak terdeteksi adanya aktivitas)

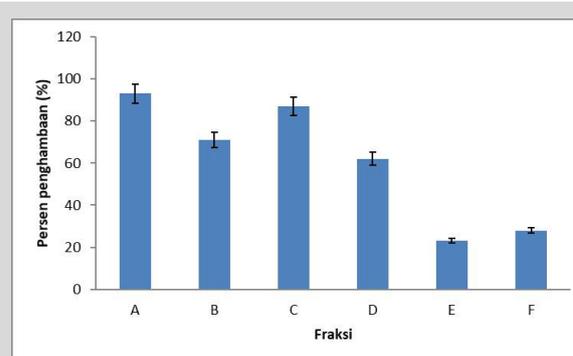
Tabel 4 menunjukkan kandungan fenolik total dengan rentang yang cukup lebar. Nilai bervariasi dari 8,25 – 34,16 mg GAE/g bobot kering fraksi. Kandungan tertinggi terdapat pada fraksi 2 (34,16 ± 0,76 mg GAE) kemudian diikuti oleh fraksi 1 dan fraksi 3.

Tabel 3. Nilai IC50 dan Nilai KBM Fraksi

Fraksi	Kandungan Fenolik Total (mg GAE/g Fraksi)
1	20,14 ± 0,87
2	34,16 ± 0,76
3	18,97 ± 0,23
4	8,25 ± 0,16
5	11,35 ± 0,14

Keterangan: ND = not detected (tidak terdeteksi adanya aktivitas)

Gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas potensial penangkapan reduksi hidrogen peroksida dari fraksi menunjukkan range aktivitas dari 23 – 87%. Aktivitas reduksi dari vitamin C sebesar 93%. Fraksi 2 menunjukkan aktivitas paling besar dari semua fraksi, yaitu sebesar 87% kemudian diikuti oleh fraksi 1 sebesar 71%.



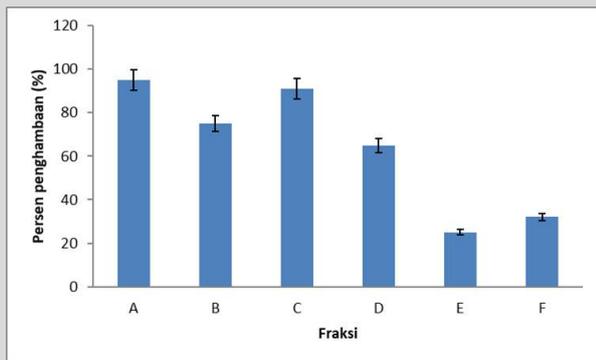
Gambar 2. Aktivitas Penangkapan Hidrogen Peroksida dari Fraksi dan Vitamin C

Keterangan gambar:

A: Vitamin C, B: Fraksi 1, C: Fraksi 2, D: Fraksi 3, E: Fraksi 4, F: Fraksi 5

Kemampuan reduksi pada metode penurunan reduksi diukur dari perubahan ion Fe³⁺ menjadi Fe²⁺. Fraksi 1 dan fraksi 2 menunjukkan nilai absorbansi yang tinggi yang mengindikasikan potensi kemampuan yang besar dalam proses reduksi dan kemampuan mendonor elektron untuk menstabilkan radikal bebas. Gambar 3 menunjukkan aktivitas reduksi dari vitamin C sebesar 95% dan fraksi 2 mempunyai aktivitas penurunan reduksi terbesar yaitu 91%.

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode peroksida dan penurunan reduksi menunjukkan hasil uji yang konsisten (Gambar 2 dan 3). Fraksi 2 mempunyai kandungan fenolik total terbesar dari semua fraksi (34,16 ± 0,76 mg GAE). Fraksi



Gambar 3. Aktivitas Kemampuan Reduksi dari Fraksi dan Vitamin C

Keterangan gambar:

A: Vitamin C, B: Fraksi 1, C: Fraksi 2, D: Fraksi 3, E: Fraksi 4, F: Fraksi 5

2 mempunyai aktivitas antioksidan terkuat dari semua fraksi, kemudian diikuti oleh fraksi 1 dan 3. Dari data tersebut menunjukkan senyawa fenolik mempunyai peran dalam menurunkan aktifitas radikal bebas. Senyawa fenol mempunyai gugus hidroksi yang mempunyai peran utama dalam menangkap radikal bebas (5). Senyawa fenol dan terpen merupakan senyawa yang bertanggungjawab terhadap penurunan aktivitas peroksidasi lipid (6).

KESIMPULAN

Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi 3 mempunyai aktivitas paling tinggi terhadap bakteri uji *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. typhi*. Uji kandungan fenolik total menunjukkan fraksi 2 mempunyai kandungan fenolik total terbesar dan mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi

DAFTAR PUSTAKA

1. Thomas, 1993, Tanaman Obat Tradisional I, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
2. Siswadi, Rianawati, H., Saragih, G., dan Hadi, D., The Potency of Faloak's (*Sterculia quadrifida* R.Br) Active Compounds As Natural Remedy, Prosiding Seminar International, Kementerian Kehutanan bagian Penelitian dan Pengembangan Hutan, Bogor.
3. Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 1986; 44(6): 307-315.
4. Huang, D., Ou, B., Proir, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 2005; 53(6): 1841-1856.
5. Gulcin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci* 2006; 78(8): 803-811.
6. Ruch, R.J., Cheng, S.J., Klaunig, J.E. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis* 1989; 10(6): 1003-1008.