

Potensi Fraksi Aktifitas

by Haryanto Susanto

Submission date: 29-Jan-2020 09:37AM (UTC+0700)

Submission ID: 1247985822

File name: 6._Jurnal.pdf (1.18M)

Word count: 2732

Character count: 15474

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

1 Haryanto Susanto

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

ABSTRAK

Kata Kunci:
 Kulit batang Faloak,
 aktivitas antibakteri,
 kandungan fenolik
 total, aktivitas
 antioksidan

Penduduk Nusa Tenggara Timur memanfaatkan kulit batang tumbuhan Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) sebagai tumbuhan obat untuk mengobati penyakit liver, gastritis, 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 (IC_{50}) pada bakteri *B. subtilis* ($90.51 \mu\text{g/mL}$), *E. coli* ($80.12 \mu\text{g/mL}$), *S. aureus* ($77.87 \mu\text{g/mL}$), dan *S. typhi* ($61.23 \mu\text{g/mL}$). Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi 2 mempunyai aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total yang paling tinggi ($34.16 \pm 0.76 \mu\text{g GAE}$).

PENDAHULUAN

Indonesia secara geografis beriklim tropis dengan curah hujan rata-rata tinggi, terkenal memiliki beraneka ragam tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia. Masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu telah mengenal tanaman 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 didaerah Nusa Tenggara Timur. Masyarakat Timur menggunakan air rebusan bagian kulit dari batang tumbuhan faloak untuk menyembuhkan penyakit hepatitis, gastritis, 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

1 Alat dan Bahan

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

persuas), lemari es, neraca analitik (BP221S), Laminar Air Flow cabinet (FARRco), vorber (junkle & 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 (junkle & Kunkel), waterbath (Iabotech, Heraeus), tabung reaksi isolating, dan alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium analisis (Pyrex-Germany dan Iwaki).

Bahan utama yang digunakan adalah kulit batang faloak, Müller Hinton, NA (Nutrient Agar), dan NB (Nutrient Broth). Mikroba uji berupa *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi* dan kontrol positif berupa streptomisin. Lempegs *alico* gel (E. Merck, jerman), dan Silko gel 60 PF25 untuk digunakan dalam KLT Preparati. 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, baffer fosfat, potassium ferrizalida, FeCl₃.

Prosedur Kerja**Analisis**

Kulit batang faloak sebanyak 3 Kg yang telah kering kemasan diserbuk, dilakukan masakan 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 diatur dengan corong Buchner. Seluruh filtrat yang diperoleh diuapkan penyarinya hingga kental dengan evaporator. Bebat 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
 rolando@unma.ac.id

Copyright:
 © 2019 Majalah Farmasi
 Farmakologi Fakultas
 Farmasi - Makassar

Diterbitkan tanggal/
 30-04-2019

Dapat Diakses Daring
 Pada:
<http://journal.unma.ac.id/index.php/mff>



Fraktonasi Ekstrak Etanol secara KLT Preparatif

Fase gerak yang digunakan adalah kloroform:n-butanol:etil asetat dengan perbandingan (3:4:1,5) dalam menarikkan 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 diteliti dengan sinar tampak sinar UV254, UV366 dan perekal asam sulfat seram sulfat kemudian ditandai. Bereich yang sudah ditandai masing-masing dikeruk dan dikumpulkan, kemudian dilarutkan dengan larutan kloroform:metanol (1:1), disaring, dan dikeringkan.

Skoring fraksi aktif

Uji uji mengukur aktivitas antimikroba dilakukan metode disc diffusion [Kirby-Bauer Test]. Mikroba uji yang digunakan *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. typhi*. Dibuat seri konsentrasi fraksi 1: 100; 50; 25; 12,5; dan 6,25 µg/ml. Sebanyak 10 µl senyawa uji dengan lima konsentrasi tersebut diterapkan 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 berti bakteri uji, paper disc yang berisi senyawa ditenggu sampai kering, yang menandakan peharutnya sudah menguap. Digunakan kontrol positif 10 µl streptomisin 10 mg/ml dan 1 µl kol pelarut 10 µl etanol absolut steril (harus diuapkan). Kultur bakteri uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, diamati zona hamatan di sekeliling paper disc, dan diperoleh fraksi aktif.

Penerapan Inhibition concentration 50 (IC50) dan Radius Buruh Minimum (KBM) Fraksi (Penerapan Potensi Fraksi)

KBM ditentukan dengan metode mikrodilusi. Ke dalam sumur microtiter plate 96-well dimasukkan 50 µl media Müller-Hinton, 50 µl suspensi mikroba uji yang telah disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 dan dicampurkan 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 1:100 250; 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 °C 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 analisis menggunakan metode Litchfield dan Wilcoxon (analisis probit).

Penerapan nilai KBM dilakukan dengan mengambil cairan dari tiap 1 crotcher plate 96-well sebanyak 3 µl lalu digoreskan pada media NA steril tanpa penambahan mikroba dan senyawa uji. Goresan pada media NA yang terikat jernih setelah inkubasi (suhu 37 °C selama 18-24 jam) ditetapkan sebagai nilai KBM.

Determinasi kandungan fenol total fraksi

Kandungan fenol 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 antiosida dengan metode peroksid

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

$$\text{Penangkapan H}_2\text{O}_2 (\%) = [(A_{\text{ctrl}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{ctrl}}] \times 100$$

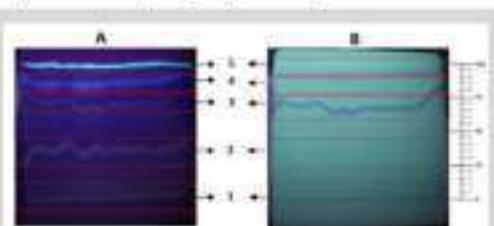
A_{ctrl}: Absorbsi kontrol, A_{sample}: Absorbsi sampel

Uji aktivitas antioksidan dengan penurunan reduksi

Potensi reduksi dari fraksi diukur menggunakan metode Oyalu (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 potassium ferisianida (2,5 mL, 1% b/v). Setelah itu diincubasi selama 10 menit pada 3000 rpm. Ambil lapisan atas larutan (2,5 mL, 1% b/v), kesejadian dicampur dengan aquadestilata (2,5 mL) dan FeCl3 (0,5 mL, 0,1% b/v). Absorbsi larutan diukur pada panjang gelombang 700 nm menggunakan spektrofotometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemisahan ekstrak etanol 96% menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTp). Kromatogram yang terdeteksi di bawah sinar UV254, UV366 dan deteksi dengan perekal seram sulfat kemudian dikelompokkan menjadi 5 fraksi seperti yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Profil Kromatogram KLT Preparatif

Keterangan gambar:
Panel A: sinar UV254 nm. Hasil pada kromatogram ini dilihat : titik-titik (3-4 titik).
Panel B: sinar UV366 nm. Hasil secara KLT preparatif, yakni 5 kromatogram disebut UV254, UV254 nm, UV366 nm, UV366 nm, UV366 nm, UV366 nm.

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

menbandingkan 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. typhi* tetapi tidak mempunyai aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Fraksi 3 mempunyai aktivitas terhadap bakteri *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, dan *S. typhi*.

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

Tabel 1. Rendemen dan KBM Fraksi

Fraksi	KBM	UV 254	UV 366	Serum Sulfat	Rendemen (% b/b)*
1	0	Meredam	Berpengaruh buru	Coklat	5,76
2	45	—	Berpengaruh buru	Coklat	15,60
3	74	Meredam	Berpengaruh buru	Coklat	20,57
4	80	—	Berpengaruh buru	Coklat	19,09
5	100	Meredam	Berpengaruh buru	Coklat	10,53

Keterangan: *Rendemen seharusnya konsentrasi ideal 20% = 20,331%

Tabel 2. Hasil Penggarisan 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. typhi</i>	K (+)	K (-)
1	62,5	ND	ND	ND	ND	19	ND
	125	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	250	ND	ND	5	ND	ND	ND
	500	ND	2	5	ND	ND	ND
	1000	5	4	7	ND	ND	ND
2	62,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	125	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	250	ND	2	ND	5	18	ND
	500	ND	3	3	6	ND	ND
	1000	ND	5	4	10	ND	ND
3	62,5	2	ND	2	4	ND	ND
	125	2	3	2	6	ND	ND
	250	4	5	2	5	20	ND
	500	5	7	3	9	ND	ND
	1000	3	9	7	11	ND	ND
4	62,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	125	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	250	ND	ND	ND	ND	23	ND
	500	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	1000	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	62,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	125	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	250	ND	ND	ND	ND	17	ND
	500	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	1000	3	ND	2	ND	ND	ND

Keterangan: ND = tidak didekti (zona hambatan tidak nyata)

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 analisis nilai IC50. Misalnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* 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 barium minimum yang lebih aktif daripada fraksi 1 dan fraksi 2 terhadap bakteri *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, dan *S. typhi*. Misalnya dalam membumuh bakteri *E. coli*, fraksi 3 dapat membutuh 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	SENARAI					
	Fraksi 1	Fraksi 2	Fraksi 3	IC50 (μg/ml)	IC50 (μg/ml)	IC50 (μg/ml)
<i>B. subtilis</i>	123,78	>500	125,87	>503	90,51	501
<i>E. coli</i>	132,93	>500	113,75	>501	80,12	501
<i>S. aureus</i>	245,76	>500	345,82	>501	77,87	501
<i>S. typhi</i>	314,76	>500	103,65	500	61,23	501

Keterangan: ND = tidak didekti (nilai konsentrasi tidak nyata)

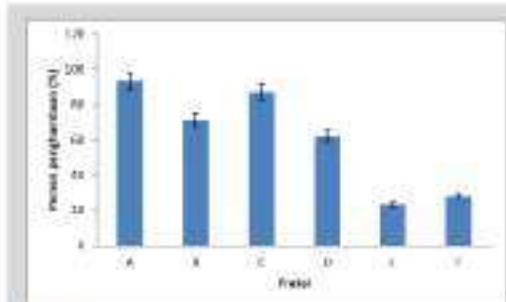
Tabel 4 menunjukkan kandungan fenolik total dengan rentang yang cukup lebar. Nilai bervariasi dari 8,25 – 34,16 mg GAE/g bobot kering fraksi. Kandungan tertinggi terdapat pada fraksi 2 (34,16 ± 0,76 mg GAE) kemudian diikuti oleh fraksi 1 dan fraksi 3.

Tabel 4. Nilai IC50 dan Nilai KBM Fraksi

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

Keterangan: ND = tidak didekti (nilai konsentrasi tidak nyata)

Gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas potensial pemungkapan reduksi hidrogen pemksida 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%.

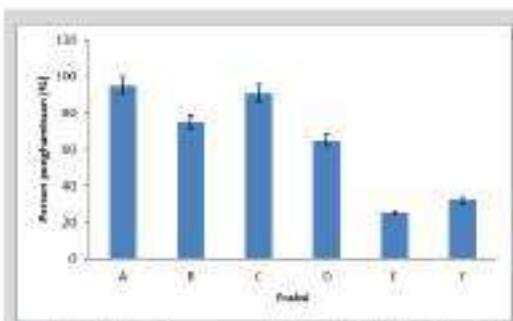


Gambar 2. Aktivitas Penangkapan Hidrogen Peroksida dari Fraksi dan Vitamin C

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 absoransi 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 Warna C. Keterangan pada:
A: Warna C; B: Frak 1; C: Frak 2; D: Frak 3; E: Frak 4; F: Frak 5.

2 mempunyai aktivitas antioksidaan terkuat dari semua fraksi, kemudian diikuti oleh fraksi 1 dan 3. Dari data tersebut menunjukkan senyawa fenolik mempunyai peran dalam menarunkan aktivitas 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 aktifitas paling tinggi terhadap bakteri uji *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. Tercatat diur. Tradisional I. Penerbit: Kuningan, Jakarta.
2. Siswadi, Rianawati, Li, Saengkhay, dan Hadi, B., The Potency of Falok (Sternula quadrifida R.Br.) Active Compounds As Novel Redox Binding Serine. International Conference Schutonot: bogor Berita dan Pengembangan Ilmu, Bogor.
3. Oyaku M. Studies on products of browning reaction: antioxidant activities of browning reaction prepared from glucose-tyrosine. Jpn J Nutr 1996; 54(6): 317-325.
4. Huang S, Wu E, Pei LHL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. J Agric Food Chem 2005; 53(6): 1841-1856.
5. Goren I. Antioxidant and antiradical activities of L-cysteine. Life Sci 1996; 59(8): 815-811.
6. Radhika, Cheng SJ, Elsingr BE. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis 1999; 20(6): 1003-1008.

Potensi Fraksi Aktifitas

ORIGINALITY REPORT



PRIMARY SOURCES

1	ejournal.litbang.depkes.go.id Internet Source	10%
2	www.scilit.net Internet Source	6%
3	www.permataindonesia.ac.id Internet Source	4%
4	journal.uad.ac.id Internet Source	3%
5	dokumen.tips Internet Source	2%

Exclude quotes

On

Exclude matches

< 2%

Exclude bibliography

On