

Perbandingan Antibakteri dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Tanaman Ceguk (*Quisqualis indica* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Sepvan Valeri^(a), Lisa Soegianto^{(a)*}, Sumi Wijaya^(a)

^(a)Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya, Indonesia

Tanaman Ceguk merupakan tanaman yang berasal dari Myanmar dan Malaysia. Tanaman ini memiliki beberapa efek farmakologi antara lain *immunomodulator*, antihiperlipidemia, antipiretik, antioksidan dan antibakteri. Aktivitas antibakteri sebelumnya telah diteliti pada bagian bunga. Pada penelitian ini ekstrak etanol dan fraksi (*n*-heksana, etil asetat dan air) dari daun tanaman ceguk diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fraksi aktif terpilih ditentukan dengan bioautografi kontak. Pengujian aktivitas antibakteri meliputi KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dilakukan dengan metode mikrodilusi dan trifenil tetrazolium klorida 1% sebagai indikator visual. Golongan senyawa fraksi aktif ditentukan dengan uji kualitatif KLT dengan menggunakan penampak noda. Ekstrak dan fraksi *n*-heksana tanaman ini menghambat pertumbuhan pada bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan nilai KHM 500 ppm pada fraksi *n*-heksana dan 1000 ppm untuk ekstrak. Ekstrak dan fraksi *n*-heksana tanaman ini tidak mampu membunuh *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan uji KLT, golongan senyawa fraksi aktif pada fraksi *n*-heksana yang diduga memiliki potensi sebagai antibakteri adalah golongan triterpenoid dengan harga *Rf* 0,63.

Kata kunci : antibakteri, ceguk, fraksi, kadar hambat minimum, kadar bunuh minimum.

Comparison of Antibacterial Activity of the Ethanol Extract and Fraction of the Ethanol Extract of Ceguk Plant (*Quisqualis indica* L.) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Ceguk is a plant which come from Myanmar and Malaysia. It has some pharmacological effects such as Immunomodulator, antihyperlipidemic, antipyretic, antioxidant and antibacterial. Antibacterial activity had been examined before at the flower. This study was aimed to compare antibacterial activity from extract and its fraction (n-hexane, ethyl acetate, and water) on Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Selected active fraction was determined from contact bioautography method. Antibacterial activity was examined using MIC (Minimum Inhibition Concentration) and MBC (Minimum Bactericidal Concentration) with microdilution assay method and triphenyl tetrazolium chloride 1% as visual indicator. Meanwhile selected active fraction was determined by qualitative TLC method using spray reagent. Extract and n-hexane fraction inhibits growth of Gram positive bacteria Staphylococcus aureus with MIC value of n-hexane fraction was 500 ppm and 1000 ppm for extract. Extract and n-hexane fraction were not active to kill Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Respectively chemical group of selected active fraction that found in n-hexane fraction was triterpenoid groups with Rf 0,63.

Keywords: antibacteria, Ceguk, fraction, minimum inhibition concentration, minimum bactericidal concentration.

*Corresponding author: lisa.soegianto@yahoo.com

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai salah satu sumber senyawa obat adalah tanaman ceguk. Tanaman ceguk (*Quisqualis indica* L.) merupakan tanaman asli dari Myanmar dan Malaysia, jarang ditemui di Indonesia dan merupakan famili Combretaceae (Bairagi *et al.*, 2012). Aktivitas farmakologi yang terdapat dalam ekstrak tanaman ceguk antara lain *immunomodulator*, antihiperlipidemia, antipiretik, antioksidan dan antibakteri. Aktivitas *immunomodulator* dalam ekstrak bunga hidroalkohol pada tikus menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis, peningkatan sekresi sitokin dan peningkatan jumlah sel darah putih (Yadav, Mohanty and Katsure, 2011). Aktivitas antihiperlipidemia dibuktikan dengan pemberian ekstrak metanol dari bagian aerial tanaman ceguk pada hewan coba hiperlipidemia yang hasilnya hampir sama dengan pemberian standar (Atorvastatin) (Sahu, 2012).

Aktivitas antipiretik ditunjukkan dengan pemberian ekstrak metanol daun ceguk pada tikus yang dibuat demam dengan penginduksian suspensi *Brewer yeast* (20% b/v) pada daerah *dorsum* (Singh *et al.*, 2010). Aktivitas antioksidan, terbukti pada uji secara *in vitro* dengan menghitung jumlah fenol total, aktivitas radikal bebas dan aktivitas reduksi. Pada penelitian ini ekstrak metanol hasil maserasi difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, karbon tetraklorida dan kloroform. Fraksi kloroform memiliki aktivitas antioksidan tinggi yang terlihat pada pengukuran fenol total dan aktivitas reduksi (Kaisar *et al.*, 2009). Aktivitas antibakteri pada ekstrak bunga hasil ekstraksi dengan metanol dibuktikan dengan metode difusi agar sumuran, dimana ekstrak bunga ceguk menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*) serta Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*). Daerah hambat pertumbuhan terhadap bakteri di atas ditunjukkan dengan pemberian ekstrak metanol bunga ceguk pada rentang konsentrasi 10-100 µg/ml (Kiruthika *et al.*, 2011). Pada penelitian ini digunakan bagian daun dari tanaman ceguk untuk diuji aktivitas antibakteri antara ekstrak dan fraksi.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat gelas, seperangkat alat uji antibakteri, *rotary vacuum evaporator* (Heidolph, Germany).

Bahan

Daun Ceguk, Etanol 70%, metanol, *n*-heksana, etil asetat, akuades, KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck KGaA, Germany), asam formiat, tetrazolium klorida, etanol 96%, NaCl, MHA, MHB, kultur bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, dan *Escherichia coli* ATCC 25923.

Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Agustus 2013 sampai Desember 2013 di Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Cara Penyiapan Sampel Simplisia

Daun Ceguk diperoleh dari Materia Medika Malang, kemudian dicuci dan dikeringkan dengan oven ± 50°C. Setelah dikeringkan kemudian dihaluskan. Sehingga dihasilkan serbuk simplisia kering daun Ceguk sebanyak 600 g.

Standardisasi Simplisia dan Ekstrak

Standardisasi simplisia yang dilakukan antara lain, organoleptis, penetapan kadar air, kadar abu, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol. Untuk standarisasi ekstrak meliputi organoleptis, kadar air dan kadar abu sesuai dengan prosedur MMI (Departemen Kesehatan RI, 1977).

Ekstraksi dan Fraksinasi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi selama 3 hari dimana serbuk simplisia kering daun Ceguk direndam dengan pelarut etanol 70% (1:7). Kemudian hasil ekstraksi tersebut dipekatkan menggunakan *Rotary vacuum evaporator* dengan suhu di bawah 50°C hingga dihasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental diencerkan dengan metanol 10%, kemudian difraksinasi cair-cair secara berturut-turut dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air.

Bioautografi

Bioautografi kontak digunakan dalam penelitian kali ini. Plat KLT ditotolkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air masing-masing 5000 ppm. Plat KLT kemudian dieluasi dengan fase gerak etanol : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2). Konsentrasi bakteri yang digunakan 10⁶ CFU/ml diinokulasikan pada lempeng agar MHA, kemudian diprainskubasi selama 1,5-2 jam (Nakamura *et al.*, 1999). Plat KLT yang telah dieluasi, kemudian ditempelkan pada lempeng agar yang telah diinokulasikan bakteri. Waktu kontak plat KLT dan lempeng agar selama satu jam, kemudian diinkubasi selama 24 jam, 37°C. Daerah yang jernih dari noda plat KLT diambil sebagai fraksi aktif.

Penentuan Golongan Senyawa Fraksi Aktif

Ekstrak dan fraksi (*n*-heksana, etil asetat dan air) dengan konsentrasi 5000 ppm ditotolkan 10 µl pada plat KLT, kemudian dieluasi dengan fase gerak etanol : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2). Penentuan golongan senyawa aktif meliputi polifenol/ flavonoid, alkaloid dan terpen/steroid. Maka digunakan beberapa penampak noda antara lain FeCl₃ untuk polifenol/ flavonoid, *Dragendorff* untuk alkaloid dan *Liebermann Burchard* untuk terpen/ steroid (Sarker, Latif and Gray, 2006).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri meliputi KHM dan KBM. Pada penentuan KHM digunakan metode mikrodilusi. Ekstrak dan fraksi aktif terpilih dengan konsentrasi 2-1000 ppm dimasukkan 100 µl pada 96-sumuran mikroplate. Kemudian ke dalam mikroplate ditambahkan 100 µl konsentrasi bakteri 10⁵ CFU/ml. Hasil pengujian KHM ini diamati dengan penambahan indikator visual yaitu Trifenil Tetrazolium klorida 1%, jika ada pertumbuhan maka akan ditemui perubahan warna menjadi merah

TABEL 1. Hasil Standardisasi Simplisia Daun Ceguk
(Departemen Kesehatan RI, 1989)

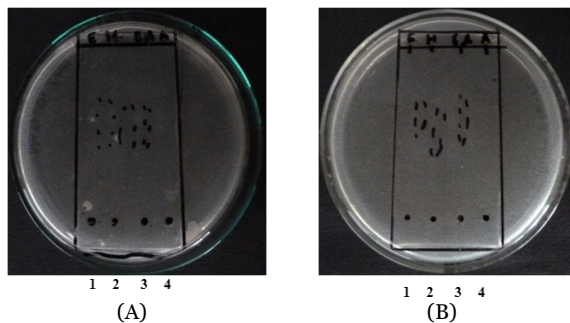
Parameter	Hasil	Keterangan
Organoleptis (bau, bentuk, dan warna)	Bau khas, serbuk kering, dan berwarna hijau tua	-
Kadar Abu	11,54% ± 0,31	Tidak memenuhi persyaratan
Kadar Air	8,69% ± 0,05	Memenuhi persyaratan
Kadar Sari Larut Air	14,42% ± 1,06	Memenuhi persyaratan
Kadar Sari larut Etanol	7,32% ± 0,63	Tidak memenuhi persyaratan

TABEL 2. Hasil Standardisasi Ekstrak Daun Ceguk
(Isnawati, Raini, dan Alegantina S, 2006)

Parameter	Hasil	Keterangan
Organoleptis (bau, bentuk, dan warna)	Bau khas, kental, dan hitam	-
Kadar Abu	6,08% ± 0,24	Memenuhi persyaratan
Kadar Air	60,03% ± 0,6	Tidak memenuhi persyaratan

TABEL 3. Hasil Skrining Kualitatif Fitokimia Simplisia dan Ekstrak (Varsha *et.al.*, 2013)

Skrining	Pereaksi	Keterangan
Tanin	FeCl ₃	+
Flavonoid	NaOH 0,1 N	+
Alkaloid	Dragendroff	+
Saponin	Kocok kuat	+

**GAMBAR 1.** Hasil pengujian bioautografi pada *Staphylococcus aureus* (A) dan *Escherichia coli* (B) dengan menggunakan fase diam KLT silika gel GF₂₅₄ pada pengamatan dan fase gerak etanol:etil asetat:asam formiat (6:4:0,2) pada konsentrasi 5000 ppm.

Keterangan : 1: ekstrak daun ceguk, 2: fraksi *n*-heksana daun ceguk, 3: fraksi etil asetat daun ceguk, 4: fraksi air daun ceguk.

atau merah muda. Pengujian KBM diperoleh dari hasil uji KHM yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan (Basri, Tan and Zin, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan standardisasi dilakukan pada simplisia dan ekstrak. Penetapan standardisasi pada simplisia meliputi organoleptis, kadar abu, kadar air, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol dapat dilihat pada **Tabel 1**. Penetapan standardisasi ekstrak meliputi organoleptis, kadar abu, dan kadar air dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Skrining kualitatif fitokimia dilakukan pula pada simplisia dan ekstrak. Pada simplisia maupun ekstrak diperoleh hasil bahwa simplisia dan ekstrak mengandung golongan senyawa tanin, flavonoid, saponin dan alkaloid (**Tabel 3**). Hasil ekstraksi memiliki rendemen sebesar 10,02% dari

600 gram serbuk kering simplisia daun Ceguk yaitu 60,11 gram. Penetapan standardisasi ekstrak meliputi pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan kadar air dan kadar abu. Pada pemeriksaan kadar air diperoleh kadar air yang cukup tinggi yaitu 12,06%. Hasil yang cukup tinggi ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak ini masih terdapat banyak air yang dikarenakan penguapan pelarut yang tidak sempurna.

Hasil pengujian bioautografi pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa pada fraksi heksana dan etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya daerah jernih. Fraksi heksana memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan fraksi etil asetat karena daerah hambatan pertumbuhan bakteri pada fraksi heksana menunjukkan intensitas kejernihan secara visual yang lebih tinggi sehingga fraksi aktif yang terpilih untuk pengujian KHM dan KBM yaitu fraksi heksana (**Gambar 1**).

Pada penentuan golongan senyawa fraksi aktif (fraksi heksana) yang dipilih berdasarkan hasil dari bioautografi. *Rf* yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu pada 0,63-0,69. Penyemprotan dengan penampak noda Liebermann-Burchard memberikan hasil yang positif yang ditandai dengan warna noda merah muda (**Gambar 2**). Hasil yang positif dengan penampak noda Liebermann-Burchard dapat disimpulkan bahwa golongan senyawa fraksi aktif yaitu dari golongan triterpenoid. Golongan triterpenoid bekerja sebagai antibakteri dengan mekanisme pengrusakan pada membran sel bakteri. Fraksi dan ekstrak yang tidak menghambat pertumbuhan bakteri ini yang ditandai dengan perubahan warna merah atau merah muda setelah penambahan larutan trifenil tetrazolium klorida karena terjadi pembentukan formazan.

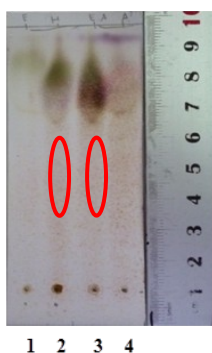
Formazan dibentuk karena terjadi reduksi dehidrogenase dari sel yang masih hidup. Ekstrak maupun fraksi *n*-heksana tidak memiliki aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli*. Hasil KHM menunjukkan pada konsentrasi minimum dari fraksi *n*-heksana yang menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 500 ppm (**Tabel 4**).

Pada pengujian dengan *Escherichia coli*, tidak aktif menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil pengujian KBM diperoleh dengan menginokulasikan hasil uji KHM yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Pengujian KBM hanya dilakukan pada *Staphylococcus aureus* karena pada uji KHM terdapat konsentrasi minimal yang menghambat pertumbuhan bakteri yaitu pada 500-1000 ppm. Hasil pengujian KBM *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 500-1000 ppm tidak aktif membunuh bakteri, sedangkan pada *Escherichia coli* tidak dilakukan uji KBM karena pada uji KHM masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Dari uji KBM didapat pada konsentrasi 500-1000 ppm dari ekstrak maupun fraksi *n*-heksana daun Ceguk tidak membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.

TABEL 4. Hasil Uji KHM (Kadar Hambat Minimum) Ekstrak Daun Ceguk dan Fraksi *n*-heksana Ekstrak Etanol Daun Ceguk pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Bakteri Uji	Bahan Uji	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)									
		1000	500	250	125	62,5	31,25	16	8	4	2
<i>Staph. aureus</i>	Ekstrak	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Fraksi heksana	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tetrasiklin	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	Kontrol (+)						+				
	Kontrol (-)							-			
<i>E. coli</i>	Ekstrak	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Fraksi heksana	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tetrasiklin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kontrol (+)							+			
	Kontrol (-)								-		

**GAMBAR 2.** Profil KLT dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ pada penyemprotan dengan pereaksi Liebermann-Burchard dengan fase gerak etanol : etil asetat : asam format (6:4:0,2).

Keterangan : 1 : ekstrak daun ceguk, 2 : fraksi *n*-heksana daun ceguk, 3 : fraksi etil asetat daun ceguk, 4 : fraksi air daun ceguk.

KESIMPULAN

Fraksi aktif (fraksi *n*-heksana) daun Ceguk memiliki aktivitas yang lebih baik sebagai antibakteri daripada ekstrak daun Ceguk pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan KHM = 500 ppm dan KBM di atas 1000 ppm. Sedangkan ekstrak maupun fraksi daun Ceguk tidak aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Golongan senyawa fraksi aktif yang diduga aktif sebagai antibakteri adalah yaitu golongan triterpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

Bairagi VA, Shinde PR, Senthikumar KL, dan Shandu N, 2012, Pharmacognostic and Phytochemical Investigation of Leaves and Flowers of *Quisqualis indica* Linn., **Int J Pharm Biomed Sci**, 3(1), 13-9.

Basri FD, Tan LS, Shafiei Z, dan Zin NM, 2012, *In Vitro* Antibacterial Activity of Galls of *Quercus infectoria* Olivier Against Oral Pathogens, **J Evid Based Complementary Altern Med**, 1-7.

Departemen Kesehatan RI, 1977, **Materia Medika Indonesia**, Jilid I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 135.

Departemen Kesehatan RI, 1989, **Materia Medika Indonesia**, Jilid V, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 485.

Isnawati A, Raini, M, dan Alegantina, S, 2006, Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Bluema balsamifera* L.) dari Tiga Tempat Tumbuh, **Media Litbang Kesehatan XVI**, (2), 1-6.

Kaisar, Islam MR, Rahman MS, Hossain MK, dan Rashid MA, 2009, Total Phenolic Content, Free Radical Scavenging Activity and Reducing Power of *Quisqualis indica* Linn., **Dhaka Univ J Pharm Sci**, 8(2), 173-175.

Kiruthika KA, Jaisheeba AA, dan Sornaraj R, 2011, Evaluation of Antibacterial Activity of Some Selected Angiosperm Flower Extract, **Int J Chem Tech Res**, 3(4), 1945-951.

Nakamura CS *et al.*, 1999, Antibacterial Activity of *Ocimum gratissimum* L. Essential Oil, **Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, 94(5), 675-78.

Sahu J, 2012, Effect of *Quisqualis indica* Linn. on Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemia in Wistar albino Rats, **Int J Pharm Res Develop**, 4(6), 86-94.

Sarker SD, Latif Z, dan Gray AI, 2006, **Natural Products Isolation**, 2nd ed., Humana Press Inc., Totowa, 31-35, 88-89.

Singh N, Khatri P, Samantha KC, dan Damor, R, 2010, Antipyretic Activity of Methanolic Extracts of Leaves *Quisqualis indica* Linn., **Int J Pharm Res Develop**, 9(11), 122-26.

Varsha S, Agrawal RC, dan Sonam P, 2013, Phytochemical Screening and Determination of Antibacterial and Antioxidant Potential of *Glycyrrhiza glabra* Root Extract, **J Environ Res and Develop**, 7(4a), 1552-1558.

Yadav Y, Mohanty PK, dan Kasture SB, 2011, Evaluation of Immunomodulatory Activity of Hydroalcoholic Extract of *Quisqualis indica* Linn. Flower in Wistar Rats, **Int J Pharm and Life Sci**, 2(4), 686-89.