

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK n-HEKSAN DAN METANOL DARI DAUN TUTUP BUMI (*Elephantopus scaber*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Irma Sari¹⁾ dan Risa Nursanty²⁾

^{1,2)} Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala
Email: imazolin@gmail.com

ABSTRAK

Dalam rangka pengembangan obat tradisional agar dapat digunakan di dalam pelayanan kesehatan formal kepada masyarakat maka perlu dilakukan penelitian mengenai khasiat dan keamanannya. Tutup Bumi (*Elephantopus scaber*) merupakan salah satu obat tradisional yang sering digunakan untuk mengatasi infeksi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun Tutup Bumi terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Ekstraksi daun Tutup Bumi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksan dan metanol. Terhadap ekstrak n-heksan dan metanol daun Tutup Bumi dilakukan skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA dilakukan dengan menggunakan metode *Kirby-Bauer* dengan variasi konsentrasi ekstrak yaitu 5, 10, 15 dan 20%. Hasil skrining fitokimia ekstrak n-heksan menunjukkan adanya steroid/triterpen, sedangkan ekstrak metanol mengandung saponin, steroid/triterpen. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA, sedangkan ekstrak metanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 5, 10, 15 dan 20% masing-masing adalah 9.7, 10.3, 12.3 dan 12.7 mm.

Kata Kunci: Daun Tutup Bumi (*Elephantopus scaber*), *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan metode *Kirby-Bauer*.

PENDAHULUAN

Berbagai spesies tumbuhan obat telah lama digunakan oleh para peneliti untuk membuktikan aktivitas antibakteri melalui pengujian terhadap berbagai strain bakteri secara *in vitro*. Banyak dari spesies tumbuhan obat tersebut yang aktif melawan bakteri gram positif dan negatif, namun masih sedikit spesies tumbuhan yang aktif melawan bakteri resisten (Kamalakaran, 2011). Investigasi yang dilakukan terhadap ekstrak tumbuhan obat tidak hanya dilakukan untuk membuktikan khasiatnya secara ilmiah tetapi juga untuk mencari tumbuhan mana yang efektif dapat dikembangkan sebagai obat, baik itu obat herbal terstandar, fitofarmaka maupun sintetis. Salah satu spesies tumbuhan obat yang digunakan secara tradisional untuk mengatasi infeksi adalah Tapak Bumi (*Elephantopus scaber*). Masyarakat etnis Aceh memanfaatkan daun tapak Bumi untuk mengobati penyakit

kulit, sakit perut dan membersihkan darah kotor (Ristoja, 2012). Aktivitas antibakteri dari Daun Tapak Bumi disebabkan oleh keberadaan senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, tannin, saponin, steroid/triterpenoid. Suatu senyawa terpenoid dengan aktivitas antibakteri yang cukup signifikan terhadap *multi drug resistant-ESBL* telah berhasil diisolasi dari ekstrak aseton *Elephantopus scaber* (Kamalakaran, 2011).

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel

Daun segar Tapak Bumi (*Elephantopus scaber*) dikoleksi dari Kecamatan Kuta Baro, Kabupaten Aceh Besar secara *proposive sampling*. Daun Tapak Bumi segar dideterminasi di jurusan biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala.

Penyiapan serbuk simplisia

Daun Tapak Bumi yang telah dikumpulkan terlebih dahulu dicuci dibawah air mengalir lalu dikeringanginkan di ruangan terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah kering, daun diserbuk menggunakan blender sehingga menghasilkan serbuk kasar simplisia.

Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan secara bertingkat dimulai dari pelarut non polar hingga polar. Simplisia sebanyak 300 g dimaserasi dengan 1,5 L n-heksan selama 5 hari sambil sesekali diaduk, selanjutnya disaring. Ampas yang dihasilkan diremaserasi dengan 1,5 L n-heksan selama 2 hari dengan sesekali diaduk, kemudian disaring. Hasil maserat digabung, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapat ekstrak n-heksan. Ampas yang dihasilkan dimaserasi dengan 1,5 L metanol selama 5 hari dan sesekali diaduk, selanjutnya disaring. Ampas yang dihasilkan diremaserasi dengan 1,5 L metanol selama 2 hari dengan sesekali diaduk, kemudian disaring. Hasil maserat digabung, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapat ekstrak metanol.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia mengacu pada Depkes (1995) dilakukan secara kualitatif untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam masing-masing tumbuhan. Berikut prosedur untuk menguji keberadaan masing-masing senyawa.

a. Uji Alkaloid

Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 250 mg kemudian ditambah 1 mL HCl 2 N dan 9 mL air, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan di saring. Kemudian masing-masing filtrat dipindahkan ke dalam 3 tabung reaksi masing-masing 3 tetes. Tabung satu ditambah pereaksi Mayer sebanyak 2 tetes, bila terbentuk endapan berwarna putih atau kuning maka positif

terdapat alkaloid. Tabung dua ditambah 2 tetes pereaksi Bouchardat, positif adanya alkaloid ditandai bila terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam. Tabung tiga ditambah 2 tetes pereaksi Dragendroff, positif adanya alkaloid ditandai bila terbentuk endapan berwarna kuning jingga.

b. Uji Flavonoid

Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 250 mg, kemudian ditambahkan dengan 10 mL metanol, dipanaskan selama 10 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian diencerkan dengan 10 mL akuades. Setelah dingin ditambahkan 5 mL eter minyak tanah, dikocok dan diambil lapisan metanol. Lapisan ini diuapkan pada suhu 40°C. Sisa dari penguapan ditambahkan 5 mL etil asetat dan diambil sebanyak 2 mL untuk diuapkan hingga kering. Sisa dari penguapan ditambah 1-2 mL etanol 95% dan masukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 100 mg serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat. Jika terbentuk warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid.

c. Uji Saponin

Sebanyak 250 mg masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 10 mL akuades panas lalu dinginkan, dan kocok kuat-kuat. Adanya senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya buih tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N.

d. Uji Tanin

Sebanyak 250 mg masing-masing ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan FeCl₃ 10% dan diamati warna yang terbentuk. Terbentuknya warna biru atau hijau menunjukkan adanya senyawa tanin.

e. Uji steroid/triterpenoid

Sebanyak 250 mg masing-masing ekstrak dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat

anhidrida. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung tersebut. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol. Bila cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid.

Mikroba uji

Mikroba uji yang digunakan yaitu bakteri MRSA merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Metode uji antimikroba merupakan metode deskriptif. Pengujian antimikroba menggunakan konsentrasi 0 (kontrol negatif/pelarut); 5; 10; 15; dan 20%. Kontrol positif menggunakan antibiotik ciprofloxacin 5 µl (antibakteri).

Uji Antimikroba

Pada uji antimikroba terlebih dahulu dipersiapkan dan dilakukan hal-hal berikut ini:

a. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA ditimbang sebanyak 19 g kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml kemudian dilarutkan dalam aquades sebanyak 500 ml. Selanjutnya dipanaskan sampai larut, dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat gelas yang akan digunakan setelah sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas beserta media MHA disterilisasi di dalam oven selama 30 menit dengan suhu sebesar 121°C selama 15 menit.

c. Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Mikroba uji yang digunakan yakni MRSA. sebelumnya terlebih dahulu di sub kultur menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dan media *Sabourand's Dextrose Agar* (SDA). Koloni mikroba yang digunakan berumur 24 jam diambil dengan kawat inokulasi lalu disuspensikan kedalam aquades steril dengan

cara mengoleskan koloni mikroba pada dinding tabung reaksi. Kemudian diaduk dengan kawat inokulasi sampai koloni halus dan bercampur dengan aquades sehingga terbentuk kekeruhan atau kerapatannya. Selanjutnya diukur absorbannya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 625 nm dengan nilai absorbansi setara pada standar kekeruhan berdasarkan 0,5 Mc Farland (McF) dengan kandungan suspensi mikroba sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

d. Uji Antimikroba

Pengujian dilakukan dengan metode Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Media MHA yang telah disterilkan dituang ke setiap cawan petri sebanyak 15-20 ml dan dibiarkan beberapa saat hingga memadat. Pada media padat disebarkan suspensi mikroba uji sebanyak 0,1 ml yang telah diukur kekeruhannya dengan menggunakan *swab* steril hingga suspensi mikroba merata di seluruh permukaan media. Media MHA pertama dibagi menjadi 4 bagian yang masing-masing diletakkan cakram yang berisi ekstrak tumbuhan sebanyak 20 µl. Kertas cakram masing-masing diletakkan pada empat bagian media [A : 5 %, B : 10 %, C : kontrol positif (antibiotik) dan D : kontrol negatif (pelarut)]. Kemudian pada cawan yang lain diletakkan juga kontrol positif, negatif, konsentrasi 15 dan 20%. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati terbentuknya zona hambat (zona bening) di sekitar kertas cakram yang diberi perlakuan. Setiap konsentrasi dilakukan sebanyak dua kali pengulangan. Zona hambatan yang tampak diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter (Sunatmo, 2009).

Analisis Data

Analisa data dilakukan secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan tersebut adalah Tapak Bumi (*Elephantopus scaber*)

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi tanpa menggunakan panas yaitu dengan merendam serbuk simplisia dengan pelarut organik sambil sesekali diaduk dalam jangka waktu tertentu. Metode ini mudah dikerjakan dan senyawa metabolit sekunder yang tidak tahan panas tidak akan terurai. Ekstraksi serbuk simplisia daun Tapak Bumi dilakukan secara bertingkat dimulai dari pelarut non polar (n-heksan) hingga pelarut polar (metanol). Tujuan dari ekstraksi bertingkat ini adalah agar diperoleh ekstrak yang berbeda tingkat kepolarannya dimana pelarut non polar akan menarik senyawa yang bersifat non polar dan pelarut polar akan menarik senyawa yang bersifat polar dari simplisia. Penarikan senyawa pada proses maserasi terjadi secara difusi. Pelarut akan masuk ke dalam sel simplisia dan menarik senyawa sehingga menyebabkan konsentrasi larutan di dalam sel menjadi lebih tinggi dari pada di luar sel, akibatnya senyawa yang ada di dalam sel akan terdesak keluar. Hal ini terus terjadi hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara senyawa di dalam sel dan di luar sel.

Srining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak daun Tapak Bumi. Hasil skrining menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan hanya mengandung senyawa golongan steroid/triterpenoid sedangkan ekstrak metanol mengandung senyawa golongan saponin dan steroid/triterpenoid. Hasil tersebut berbeda dengan penelitian Kamalakannan *et al* (2011) dimana ekstrak metanol dari daun Tapak Bumi mengandung senyawa alkaloid, tannin dan saponin. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan letak tumbuh yang dapat mempengaruhi kondisi tanah dan iklim tempat tumbuh tumbuhan.

Ekstrak metanol menunjukkan hasil positif terhadap saponin. Pengujian saponin menggunakan uji Forth, yaitu pengocokan dengan air hingga terbentuk buih selama 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCl 2 N. Penambahan HCl 2 N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil.

Senyawa steroid/triterpenoid dapat bereaksi dengan H₂SO₄ pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat menghasilkan warna hijau biru. Senyawa steroid/triterpenoid yang terdapat di dalam ekstrak n-heksan merupakan senyawa steroid/triterpenoid bebas sedangkan pada ekstrak metanol terdapat senyawa steroid/triterpenoid glikosida, sehingga mampu tertarik ke dalam pelarut polar (Robinson, 1995).

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksan dan metanol daun Tapak Bumi

Penetapan	Ekstrak n-heksan	Ekstrak metanol
Alkaloid	-	-
Flavonoid	-	-
Saponin	-	+
Tanin	-	-
Steroid/triterpen	+	+

Keterangan gambar: + hasil positif dan – hasil negatif

Uji Aktivitas Antibakteri

Pada hasil uji antimikroba terlihat bahwa ekstrak n-heksan tidak dapat menghambat

pertumbuhan bakteri MRSA. Hal ini terlihat tidak adanya terbentuk zona hambat disekitar kertas cakram. Sementara pada kontrol positif

menggunakan antibiotik ciprofloxacin zona hambatnya mencapai 23,7 mm. Kemungkinan senyawa steroid/ triterpen yang terdapat dalam ekstrak n-heksan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Berbeda dengan hasil penelitian Fathia *et al.* (2015) ekstrak n-heksan daun kembang sepatu memiliki daya hambat terhadap bakteri MRSA yang resisten dengan antibiotik linezolid.

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak n-heksan

Konsentrasi (%)	Rata-rata diameter zona hambat (mm)
Kontrol positif (Cyprofloxacin 5 µl)	23,7
Kontrol negatif (pelarut n-heksan)	0
5	9,7
10	10,3
15	12,3
20	12,7

Hasil pengujian antibakteri terhadap ekstrak metanol daun Tapak Bumi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang terlihat dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram yang berisi ekstrak. Aktivitas ini disebabkan oleh senyawa saponin dan steroid/triterpen yang terkandung di dalam ekstrak metanol. Senyawa saponin dapat merusak membran sel bakteri mengakibatkan sifat permeabilitasnya terganggu sehingga transport zat ke dalam dan ke luar sel

DAFTAR PUSTAKA

- Aliadi, A, *Stop Erosi Pengetahuan Orang Kampung*. <http://WWW.Latin.Or.ID/indo%20publ-art%20>. 08 November 2006.
- Al-Jafari ASH, Hossain MA. Phytochemical studies of various polaties leave crude extracts of Oman *Datura metel* L and evaluation of their antimicrobial potential. *Journal of Coastal Life Medicine*. 2015: 3(3): 214-219.
- Aslam MS, Ahmad MS, Mamat AS. Antimicrobial potential of *Elephantopus scaber*: an update review. *Indian Research Journal of Pharmacy and Science*. 2012: 2(4): 315-322.

tidak terkontrol. Keadaan ini menyebabkan nutrisi dan enzim-enzim yang diperlukan untuk metabolisme keluar dari sel sehingga pertumbuhan sel bakteri terhambat dan menyebabkan kematian sel (Madduluri, 2013). Senyawa steroid/triterpen dapat merusak membran plasma sel bakteri sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma dan kematian sel (Wiyanto, 2010).

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak metanol

Konsentrasi (%)	Rata-rata diameter zona hambat (mm)
Kontrol positif (Cyprofloxacin 5 µl)	23,7
Kontrol negatif (pelarut metanol)	0
5	9,7
10	10,3
15	12,3
20	12,7

KESIMPULAN

Hasil uji fitokimia dari ekstrak n-heksan daun Tapak Bumi mengandung senyawa steroid/triterpenoid dan ekstrak metanol mengandung senyawa saponin dan steroid/triterpenoid. Ekstrak n-heksan daun Tapak Bumi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Ekstrak metanol daun Tapak Bumi menghasilkan zona hambat terbesar pada konsentrasi 20% yaitu 12,7 mm.

- Departemen Kesehatan RI. *Materia Medika* Edisi VI. 1995. Penerbit Depkes RI, Jakarta.
- Fathia M, Nursanty R, Saidi N. Uji antibakteri ekstrak n heksan daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Biologi Edukasi*. 2015: 7(10): 1-4.
- Guo YZ, Xin JZ, Cui XY, Han J, Gen CW, Zhong QB. Evaluation of traditional Chinese medicinal plants for anti-MRSA activity with reference to the treatment record of infectious diseases. *Molecules*. 2012: 17: 2955-2967.

- Kamalakaran P, Kavitha R, Elamathi R, Deepa T, Sridhar S. Study of phytochemical and antimicrobial potential of methanol and aqueous extracts of aerial parts of *Elephantopus scaber*. 2011; 4(1): 18-21.
- Muharso. Kebijakan Pemanfaatan Tumbuhan Obat Indonesia. *Makalah seminar "Tumbuhan Obat di Indonesia"*, Kerjasama Indonesia Resource Centre for Indigenous Knowledge (INTRIK), Universitas Pajajaran dan Yayasan Ciungwanara dengan Yayasan Kehati. 2000: 26-27.
- Robinson T. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi* Edisi 6. Terjemahan dari *The Organic Constituents of Higher Plants* oleh Kosasih Padmawinata. 1995. Perbit ITB, Bandung
- Tim Pelaksana. Hasil Penelitian RISTOJA Aceh. 2012. Lembaga Penelitian Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.