

UJI BIOAKTIVITAS PADA EKSTRAK KASAR ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN ETANOL-AIR DARI DAUN ANDONG (*Cordyline terminalis* Kunth)

Ritson Purba, Enos Tangke Arung, Teddy Tranoto

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, 75123

ABSTRACT

Phytochemical, brine shrimp lethality and antibacterial activity tests in each fraction from Andong leaves extract (*Cordyline terminalis* Kunth) that came from Unmul Samarinda botanical garden, Kalimantan Timur has been carried out. The leaf was extracted with ethanol and concentrated by using rotary evaporator. The crude ethanol extract was fractionated with *n*-hexane, and ethyl acetate. Based on the secondary metabolites phytochemical test of the *Cordyline terminalis* Kunth leaves show that crude ethanol extract is contain phenol, saponin and steroid. *n*-hexane fraction is contain steroid. Ethyl acetate fraction is contain phenol and steroid. And ethanol-water fraction is contain phenol and saponin. Brine shrimp lethality test exhibit mortality rate of *Artemia salina* (L) by Probit SAS analysis to determine lethal concentration 50% (LC₅₀) value. The test showed that the most active was crude ethanol extract with LC₅₀ value of 26.8788 ppm. Antibacterial activity test of extracts for *Bacillus cereus* bacteria (positive Gram) and *Escherichia coli* (negative Gram) were carried out by paper disk method. The test showed that the most active were ethyl acetate extract with minimum inhibitor concentration of 2-10% which clear zone diameter was 6,4 mm on *Bacillus cereus* bacteria and 6 mm on *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: *Phytochemical, Antibacterial activity, LC₅₀*

A. PENDAHULUAN

Indonesia adalah Negara yang kaya akan potensi keaneka ragam hayati, dimana salah satu diantaranya adalah hutan. Berdasarkan penelitian terhadap keaneka ragam hayati dari hutan tropis Indonesia, disimpulkan bahwa hampir 17% dari spesies yang ada dipermukaan bumi terdapat di Indonesia. Ini merupakan sumber senyawa kimia, baik berupa senyawa metabolit primer maupun senyawa metabolit sekunder (Darwis, 2000; Sutisna, 2000).

Akhir-akhir ini senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder pada berbagai jenis tumbuhan telah banyak dimanfaatkan sebagai zat warna, racun, aroma, obat-obatan dan lain sebagainya. Tumbuhan obat sebenarnya sudah sejak lama dipergunakan oleh bangsa Indonesia sebagai bahan obat-obatan tradisional yang lazim disebut jamu-jamuan (Darwis, 2000; Sutisna, 2000).

Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah tumbuhan Andong (*Cordyline terminalis* Kunth). Rebusan dari daun andong dipercaya dapat menyembuhkan batuk berdarah, urin berdarah, diare atau disentri (Anonim, 2008)

Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth) merupakan tanaman yang tidak dikonsumsi sebagai

makanan harian. Oleh karena itu harus dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui tingkat keracunannya. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan metode yang sering digunakan untuk uji toksisitas serta uji skrining awal terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan karena murah, cepat dan dapat dipercaya (Mazni, 2008). Dengan metode ini akan diperoleh nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration 50%*) yang dihitung berdasarkan pengaruh senyawa alam tersebut terhadap kematian *Brine shrimp artemia salina* Leach. Uji toksisitas ini juga merupakan penelitian pendahuluan yang dimana dari hasil uji toksisitas ini kita dapat melihat apakah senyawa aktif yang terkandung didalam daun andong berpotensi dapat digunakan sebagai anti bakteri.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder dari daun tumbuhan Andong dan meneliti sejauh mana kadar toksisitas untuk mengetahui apakah daun tersebut aman untuk di konsumsi. Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk mengetahui seberapa besar potensi daun tanaman Andong (*Cordyline terminalis* Kunth) untuk pemanfaatannya sebagai antibakteri.

B. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan berupa blender, beaker glass, Erlenmeyer, pompa vakum, rotari

evaporator, neraca analitik, pipet volume, pipet tetes, corong, corong pisah, tabung reaksi, pipet mikro 100-1000 μ l, batang pengaduk, cawan petri, jarumose,

incubator, penggaris, autoklaf, *laminar flow*, *water shaker*, *hot plate*, *magnetic stirrer* dan gelasukur.

2.2. Bahan

Bahan – bahan yang digunakan berupa daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth), etanol, etilasetat, akuades, *n*-heksana, DMSO, Pereaksi dragendorff, FeCl₃, kloroform, HCl pekat, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH glasial, serbuk Mg, dietileter, HgCl₂, yeast, pepton, nutrient agar, kloramfenikol, cakram kertas 6 mm, bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Bacillus cereus*, kertas saring *whatman* No. 1, kapas, lidi, kainkasa dan telur udang.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Persiapan Sampel

Sampel yang akan diekstraksi terlebih dahulu dikeringanginkan di dalam ruangan agar tidak terkena sinar matahari langsung selama kurang lebih 2 minggu kemudian dihaluskan.

2.3.2. Maserasi dan Pemekatan Larutan

Daun Andong yang sudah halus ditimbang sebanyak 100 gram, dimasukkan kedalam bejana meserasi kemudian ditambah pelarut etanol hingga seluruh sampel terendam. Setelah itu Bejana meserasi ditutup agar terlindung dari cahaya matahari dan dibiarkan 3 hari sambil diaduk, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring, lalu ampasnya dimeserasi lagi sampai diperoleh larutan tidak berwarna lagi. Hasil ekstrak dipekatkan dengan rotary evaporator vakum, maka di peroleh ekstrak kasar fraksi etanol.

2.3.3. Fraksinasi

Ekstrak kasar etanol daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth) difraksinasi berdasarkan pada perbedaan kepolaran pelarut-pelarut organik. Caranya adalah sebagai berikut: ekstrak kasar etanol ditambahkan etanol, kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana didalam corong pisah, sehingga diperoleh 2 fraksi, yaitu fraksi etanol dan fraksi *n*-heksana. Dilakukan penambahan *n*-heksana secara berulang kali hingga diperoleh fraksi *n*-heksana yang jernih. Fraksi *n*-heksana dipekatkan dengan *rotari evaporator* dan disebut sebagai ekstrak fraksi *n*-heksana.

Kemudian fraksi etanol ditambahkan air dengan perbandingan 6:4, dan kemudian di fraksinasi dengan etilasetat. Dilakukan penambahan etil asetat secara berulang hingga diperoleh ekstrak etilasetat yang jernih. Dari fraksinasi kedua ini diperoleh 2 fraksi, yaitu fraksi etilasetat dan fraksi etanol-air. Kemudian kedua fraksi tersebut dipekatkan dengan *rotari evaporator* dan hasilnya masing-masing disebut sebagai ekstrak fraksi etil asetat dan ekstrak fraksi etanol-air (Rismawati, 2010).

2.3.4. Uji Fitokimia

2.3.4.1. Uji alkaloid Uji Meyer's dan Dragendorff

Sebanyak 20 mg ekstrak kasar etanol daun Andong ditambah 10 mL kloroform-amoniak dan

disaring kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan beberapa tetes H₂SO₄ 2M, dikocok dan dibiarkan hingga terjadi 2 lapisan. Kemudian diambil lapisan asam lalu dibagi menjadi 2 bagian kedalam masing-masing tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambah dengan pereaksi Dragendorff. Terbentuk endapan warna jingga sampai merah coklat manunjukkan positif alkaloid. Kemudian tabung reaksi kedua ditambahkan dengan beberapa tetes pereaksi Meyer. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih (Robinson, 1995).

Diberikan perlakuan yang sama pada fraksi *n*-heksana, fraksi etilasetat dan fraksi etanol-air

2.3.4.2. Uji Saponin/ Uji Forth

Sebanyak 50 mg ekstrak kasar etanol ditambahkan air panas 5 ml kemudian dalam keadaan panas dikocok kuat-kuat. Ekstrak positif mengandung saponin jika timbul busa dengan ketinggian 1-10 cm yang bertahan selama 10 menit (Harborne, 1987).

Diberikan perlakuan yang sama pada fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air.

2.3.4.3. Uji Steroid dan Triterpenoid/ Uji Lieberman-Buchard

Sebanyak 30 mg ekstrak kasar etanol darid daun Andong ditambahkan CHCl₃ lalu ditambah reagen Lieberman Buchard. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau dan untuk Triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1987).

Diberikan perlakuan yang sama pada fraksi *n*-heksana, fraksi etilasetat dan fraksi etanol-air.

2.3.4.4. Uji Flavonoid

Sebanyak 50 mg ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, dikocok-kocok. Positif Flavonoid apa bila terbentuk warna merah, jingga atau (Robinson, 1995).

Diberikan perlakuan yang sama pada fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air.

2.3.4.5. Uji Fenolik

Sebanyak 50 mg ekstrak kasar etanol ditambahkan air yang telah dipanaskan lalu ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Ekstrak positif mengandung fenolik apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam (Harborne, 1987).

Diberikan perlakuan yang sama pada fraksi *n*-heksana, fraksi etilasetat dan fraksi etanol-air.

2.3.4.6. Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Kertas Cakram

Untuk uji antibakteri, dibiakan bakteri yang telah berumur 18 sampai 24 jam dalam media *Luria Bertani* (LB). Kedalam suspensi bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*, dicelupkan kapas lidi steril, ditunggu sebentar agar cairan meresap kedalam kapas. Kemudian lidi diangkat dan diperas dengan menekan lidi pada dinding tabung bagian dalam sambil di putar-putar. Digores-goreskan kapas lidi pada permukaan media LB hingga seluruh permukaan tertutup rapat dengan goresan-goresan. Media LB

dibiarkan selama 5 - 15 menit agar suspensi bakteri meresap kedalam agar-agar.

Sampel dilarutkan dalam pelarut tertentu sampai diperoleh konsentrasi tertentu kemudian dimasukkan cakram kertas. Cakram kertas berisi sampel diletakkan di atas permukaan agar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C-37°C. Setelah lewat masa inkubasi, diameter zona hambat yang terbentuk berupa daerah bening, diukur sebagai parameter untuk menentukan besarnya aktivitas antibakteri (Mayanti 2010). Ekstrak yang digunakan dalam uji aktifitas antibakteri ini yaitu ekstrak kasar etanol, Fraksi *n*-heksana, Fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air.

2.3.5. Uji mortalitas Larva Udang (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Sebanyak 10 mg telur udang diambil dan ditambahkan dengan 100 ml air laut yang telah disaring. Selanjutnya diberi pencahayaan lampu pijar agar menetas sempurna. Setelah 24-48 jam telur udang menetas dan siap untuk diuji (Nurhayati, 2006). Ditimbang ekstrak kasar sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan air laut hingga volumenya mencapai 10 mL dalam labu ukur, untuk membuat konsentrasi sampel 2000 ppm. Disiapkan 8 buah tabung reaksi. Dipipet larutan induk 2000 ppm kedalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 2500µL, 1250µL, 625µL, 312,5µL, 156,2µL, 78,1µL, 39µL dan 19,5µL. Kemudian pada masing-masing tabung ditambahkan 2 mL air laut, 10 ekor larva udang dan ditambahkan lagi air laut hingga volumenya 5 mL. Sehingga konsentrasi masing-masing menjadi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,2 ppm, 15,6 ppm, dan 7,8 ppm. Jumlah larva yang mati dihitung dalam waktu 24 jam dan dianalisa untuk menentukan nilai LC₅₀. Untuk control dilakukan hal yang sama dengan perlakuan sampel tetapi tanpa penambahan ekstrak kasar. Setiap sampel dilakukan uji mortalitas sebanyak tiga kali (triplo). Data yang diperoleh dimasukkan dalam lembar pengamatan (Kadarisman, 2000). Ekstrak fraksi etanol-

air, *n*-heksana dan etil asetat juga dilakukan uji mortalitas larva udang (*brine shrimp lethality test*) dengan prosedur yang sama seperti pada ekstrak kasar (wijaya, 2006)

2.3.6. Penentuan MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

Ekstrak daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth) dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 1, 2, 4, 6, 8, dan 10% (b/v) pada masing-masing fraksi. Pelarut yang digunakan adalah aquades pada fraksi etanol-air, *n*-heksana pada fraksi *n*-heksana dan etanol pada fraksi etil asetat dan ekstrak kasar etanol. Tiap konsentrasi kemudian diuji aktifitas antibakteri dan konsentrasi terendah dari ekstrak yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri merupakan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

2.3.7. Teknik Analisis Data

Pengambilan data dilakukan setelah melakukan uji mortalitas larva udang (*Artemiasalina* Leach) berdasarkan nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration 50%*) yaitu nilai dengan kematian 50% dalam 1 hari (LC₅₀ dalam unit waktu) ditentukan dengan menggunakan analisa probit SAS. Efektivitas dari ekstrak kasar etanol daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth) terhadap larva udang (*Artemia salina* L.) dinyatakan dalam LC₅₀ (ppm) 24 jam setelah perlakuan.

Sedangkan analisa data untuk uji aktifitas antibakteri adalah dengan cara mengukur diameter daerah bening yang dihasilkan dari ekstrak kasar etanol dan dibandingkan dengan standar kloramfenikol. David Stout mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut, daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10 – 20 mm (kuat), 5 – 10 mm (sedang) dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Ardiansyah, 2005).

C. HASIL PENELITIAN

Ekstrak kasar etanol yang diperoleh difraksinasi dengan *n*-heksana kemudian etil asetat, diperoleh 3 fraksi yaitu fraksi *n*-heksana, etil asetat dan etanol-air. Selanjutnya setiap fraksi dipekatkan dengan rotari

evaporator. Adapun berat dari ekstrak kasar dan ekstrak dari masing-masing fraksi disajikan dalam tabel berikut ini.

Tabel 1. Berat Ekstrak Kasar

Jenis Ekstrak	Berat (gram)
Ekstrak Kasar Etanol	99,93
Ekstrak Fraksi <i>n</i> -Heksana	3,61
Ekstrak Fraksi Etil Asetat	2,34
Ekstrak Fraksi Etanol-Air	9,41

3.1. Hasil Uji Fitokimia

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia dari ekstrak kasar dan ekstrak dari masing-masing fraksi

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak			
	Ekstrak Kasar Etanol	Fraksi <i>n</i> -Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol-Air
Alkaloid	-	-	-	-

Saponin	+	-	-	+
Steroid	+	+	+	-
Triterpenoid	-	-	-	-
Flavonoid	-	-	-	-
Fenol	+	-	+	+

3.2. Hasil Uji mortalitas Larva Udang (*Brine Shrimp Lethality Test*)

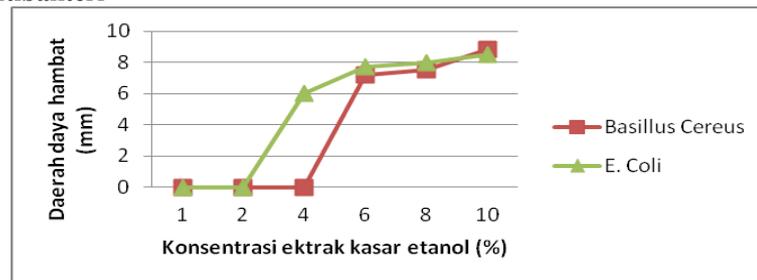
Tabel 3. Nilai LC₅₀ uji mortalitas larva udang ekstrak kasar dan masing-masing fraksi

Jenis Ekstrak	LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Kasar Etanol	26,8788
Fraksi <i>n</i> -Heksana	123,2828
Fraksi Etil Asetat	74,5244
Fraksi Etanol-Air	49,8893

Berdasarkan data di atas menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol memiliki bioaktivitas paling tinggi terhadap larva udang, yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ paling kecil yaitu 26,8788 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 26,8788 ppm ekstrak kasar etanol mampu membunuh larva udang sampai 50% populasi. Semakin kecil nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration 50%*) dari suatu sampel maka semakin tinggi bioaktivitasnya.

Pada ekstrak fraksi *n*-heksana, etil asetat dan etanol-air menunjukkan nilai LC₅₀ yang lebih besar bila dibandingkan dengan ekstrak kasar etanol. Berdasarkan uji fitokimia, jenis senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kasar lebih banyak bila dibandingkan dengan ketiga ekstrak yang lain. Hal ini menunjukkan adanya kerja sama yang sinergis antar senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya.

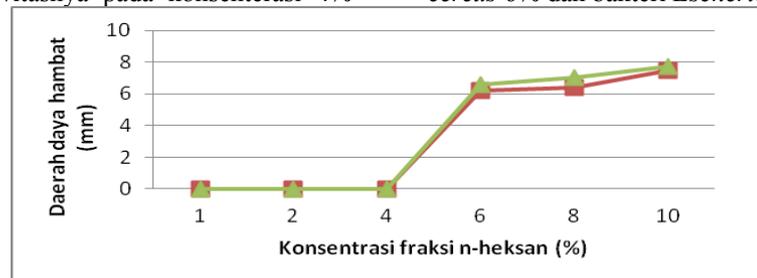
3.3. Uji Aktivitas Antibakteri



Gambar 1. Grafik aktivitas antibakteri pada ekstrak kasar etanol terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*.

Pada ekstrak kasar, bakteri *Bacillus cereus* menunjukkan aktivitasnya pada konsentrasi 6%, dengan diameter zona bening 7,2 mm. Pada bakteri *Escherichia coli* menunjukkan aktivitasnya pada konsentrasi 4%

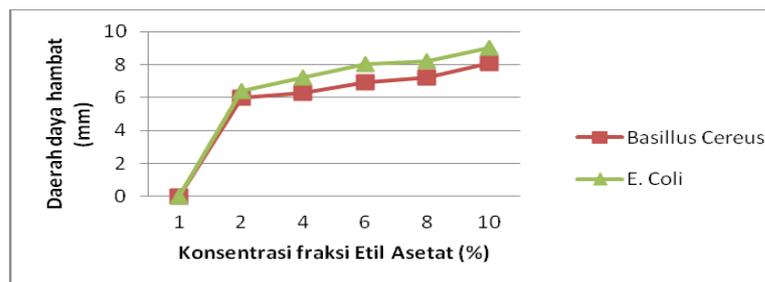
dengan zona bening 6 mm. Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri didapat konsentrasi minimum dari kedua masing-masing bakteri, dimana pada bakteri *Bacillus cereus* 6% dan bakteri *Escherichia coli* 4%.



Gambar 2. Grafik aktivitas antibakteri pada fraksi n-heksan terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*.

Dari hasil pengujian, kedua bakteri menunjukkan aktivitasnya pada konsentrasi 6% dengan diameter zona bening 6,2 mm pada bakteri *Bacillus cereus* dan zona bening 6,6 mm pada bakteri

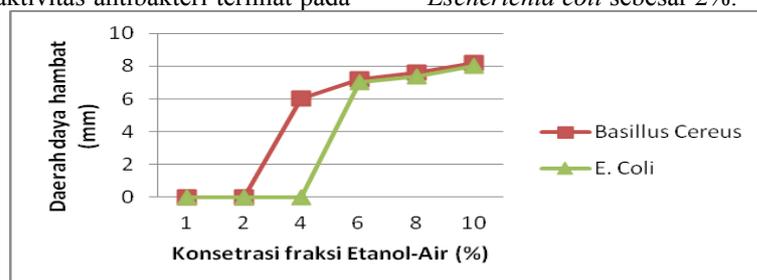
Escherichia coli. Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri didapat konsentrasi minimum dari bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* sebesar 6%.



Gambar 3. Grafik aktivitas antibakteri pada fraksi etanol-air terhadap bakteri *Bacillus cereus*.

Dari hasil pengujian terhadap *Bacillus cereus* pada konsentrasi 2% sudah terlihat adanya aktivitas antibakteri dengan diameter zona bening sekitar 6 mm. Pada *Escherichia coli*, aktivitas antibakteri terlihat pada

konsentrasi 2% dengan diameter zona bening sekitar 6,4 mm. Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri didapat konsentrasi minimum dari bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* sebesar 2%.



Gambar 4. Grafik aktivitas antibakteri pada ekstrak fraksi etanol-air terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*.

Pada fraksi etil asetat, untuk bakteri *Bacillus cereus* pada konsentrasi 4% baru terlihat aktivitas antibakteri dengan diameter zona bening 6 mm sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* sudah terlihat

pada konsentrasi 6% dengan diameter zona bening sekitar 7 mm. Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri didapat konsentrasi minimum dari bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* sebesar 6% dan 4%.

D. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut

1. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kasar etanol daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth) adalah fenol, saponin dan steroid. Ekstrak fraksi *n*-heksana hanya mengandung senyawa steroid. Ekstrak fraksi etil asetat mengandung senyawa fenol dan steroid. Ekstrak fraksi etanol-air mengandung senyawa fenol dan saponin.

2. Berdasarkan hasil uji mortalitas larva udang (*brine shrimp lethality test*) daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth), ekstrak kasar etanol memiliki bioaktivitas paling tinggi. Dengan nilai LC_{50} sebesar 26,8788 ppm.

3. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri pada konsentrasi minimum 2% dengan diameter zona bening 6,4 mm pada bakteri *Bacillus cereus* dan 6 mm pada bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ardiansyah. 2007. 28 Januari 2009. *Antioksidan dan Perannya Bagi Kesehatan*. Artikel Iptek. <http://ardiansyah.multiply.com/journal/item/14>
2. Dalimarta, Setiawan. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Jakarta: Puspa Swara
3. Darwis, D. 2000. *Teknik Dasar Laboratorium dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati*. Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia di dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. FMIPA UNAND, Padang.
4. Day, R. A. dan Underwood. A. L. 1998. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi Keenam. Jakarta : Erlangga.
5. Fessenden dan Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Jilid 2. Jakarta : Erlangga.
6. Hanani, Endang, Abdul Mun'im dan Ryany Sekarini. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspongia SP dari kepulauan Seribu*. Jurnal Majalah Ilmu Kefarmasian.
7. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung : Penerbit ITB.
8. Hariaman, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta : Penebar Swadaya.

9. Harun, N dan Syari W. 2002. *Aktivitas antioksidan ekstrak daun dewa dalam menghambat sifat hepatotoksi khalotan dengan dosis sub anastesi pada mencit*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. Padang : Genta Kirana Grafika, 7(2):63-70.
10. Herbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolisme Sekunder edisi kedua Penerjemah Bambang Srigendono*. Semarang : IKIP Semarang Press.