



ISOLASI FLAVONOID DARI BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla*, King) DAN Uji AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI

Siti Novita Sari*) dan Sri Mursiti

*Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Agustus 2016
Disetujui September 2016
Dipublikasikan November 2016

Kata Kunci:
flavonoid
biji mahoni
antibakteri

Abstrak

Flavonoid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan, salah satunya adalah famili *Meliaceae* yaitu pada tanaman mahoni yang terdapat pada bijinya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakter senyawa flavonoid dan mengetahui konsentrasi hambat minimum yang paling kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil identifikasi senyawa flavonoid menunjukkan adanya gugus fungsi C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O, C=C, dan C-H aromatik pada spektrofotometer IR serta munculnya puncak spektrum pada panjang gelombang 240 nm dan 236 nm pada spektrofotometer UV-Vis, dari hasil yang didapat bahwa senyawa flavonoid hasil isolasi dari biji mahoni merupakan golongan isoflavon. Uji antibakteri yang dilakukan menggunakan metode cakram dari hasil yang didapat menunjukkan senyawa flavonoid hanya berpotensi terhadap bakteri Gram negatif dengan konsentrasi hambat minimum 6,5% paling kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Abstract

Flavonoids are a group of secondary metabolites found in many growing - plants, one of which is the family *Meliaceae* that the mahogany plants contained in the seeds. The aim of this study was to determine the character of flavonoid compounds and determine the minimum inhibitory concentration of the most powerful to inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Results identification of flavonoid compounds showed functional groups C-H aliphatic, C=O, C=C aromatic, C-O, C=C, and C-H aromatic in the spectrophotometer IR and the appearance of the peak of the spectrum at a wavelength of 240 nm and 236 nm in the UV-Vis spectrophotometer, from the results obtained that the flavonoid compound isolated from a mahogany seed isoflavone group. Antibacterial test conducted using the method of discs of the results obtained shows only the flavonoid compound has the potential to Gram-negative bacteria with minimum inhibitory concentration of 6.5% most strongly to inhibit the growth of bacteria *Escherichia coli*.

Pendahuluan

Biji mahoni (*Swietenia mahagoni*) memiliki banyak manfaat sebagai obat diantaranya sebagai obat penurun panas, obat kencing manis (*Diabetes Mellitus*), tekanan darah tinggi, peluruhan lemak, masuk angin, radang usus, diare, luka, dan bisul. Sebagian obat alamiah ini berasal dari alam atau tumbuh-tumbuhan, inilah taraf permulaan dari obat yang dikenal dengan obat tradisional (Dalimartha; 2006).

Biji mahoni mempunyai kandungan kimia alkaloid, saponin, dan flavonoid. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Mursiti; 2009) berhasil meneliti senyawa aktif flavonoid 7-hidroksi-2-(4-hidroksi-3-metoksi-fenil)-kroman-4-one dari biji mahoni (*S. mahagoni* (L.) Jacq.), meskipun telah berhasil diisolasi dari biji mahoni (*S. mahagoni* (L.) Jacq.) senyawa aktif tersebut belum dikaji aktivitas antibakterinya.

Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan. Senyawa-senyawa tersebut terdistribusi secara luas pada bagian-bagian tanaman baik pada akar, batang, daun, buah maupun biji, sehingga senyawa ini secara tidak disadari juga terdapat dalam menu makanan sehari-hari. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut tidak membahayakan bagi tubuh dan sebaliknya dapat memberikan manfaat pada kesehatan (Prawiroharsono; 2011).

Penelitian tentang pemanfaatan flavonoid dan turunannya telah banyak dilakukan. Berdasarkan penelitian-penelitian 10 tahun terakhir menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dan turunannya memiliki beberapa kegunaan salah satunya sebagai antibakteri (Sukadana; 2012).

Flavonoid bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri, selain itu flavonoid juga bersifat bakteriostatik yang bekerja melalui penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Achmad; 2006).

Melihat banyaknya penelitian tentang biji mahoni dan manfaatnya, maka perlu dilakukan penelitian tentang isolasi senyawa flavonoid dari biji mahoni (*swietenia macrophylla*, king) dengan metode maserasi dan dipekatkan menggunakan vakum evaporator. Hasil yang didapat akan

dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer IR dan spektrofotometer UV-Vis, serta di uji aktivitasnya terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) untuk mengetahui konsentrasi daya hambat.

Metode Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, neraca analitik *Metter Toledo*, inkubator, vakum evaporator (*Eyela SB-651*), oven *GCA Crop*, *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) *Perkin Elmer Frontier*, dan spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji mahoni yang sudah dihaluskan menjadi serbuk, *n*-heksana teknis, methanol teknis, akuades, etil asetat, FeCl₃, serbuk Mg, kloroform, amoniak, H₂SO₄, HCl dengan *grade pro analyst* buatan *Merck*, serta pereaksi *Mayer* dan *Dragendorff*, biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Prosedur penelitian meliputi isolasi flavonoid, uji fitokimia dan uji aktivitas senyawa hasil hidrasi terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Pembuatan serbuk simplisia biji mahoni dengan cara sampel biji mahoni sebanyak 3 kg di blender sampai terbentuk serbuk biji mahoni dan di keringkan selama seminggu dengan suhu ruang untuk mengurangi kadar airnya, selanjutnya memasukkan sampel yang telah kering ke dalam wadah dan tambahkan pelarut *n*-heksana untuk proses maserasi sampai semua sampel terendam, proses ini dilakukan selama 3 kali 24 jam kemudian menyaring, sehingga didapatkan residu dan filtrat. Residu mahoni kemudian dikeringkan selama 24 jam dengan suhu ruang. Residu mahoni yang sudah kering ditambahkan pelarut metanol sampai semua sampel terendam, filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan vakum evaporator dengan suhu 60°C. Larutan metanol dapat digunakan untuk maserasi kembali. Perlakuan ini dilakukan selama 3 kali 24 jam. Maserasi ini dilakukan dengan tujuan mengekstrak senyawa yang masih tertinggal pada residu setelah filtrat diambil dari maserasi sebelumnya.

Larutan pekat metanol diuji flavonoid, alkaloid dan saponin secara fitokimia. Larutan pekat metanol difraksinasi dengan pelarut organik yaitu etil asetat dan air sehingga diperoleh fraksi etil asetat. Larutan fraksi etil asetat dipekatkan kembali menggunakan vakum evaporator dengan suhu 70°C sampai kering, setelah itu diuji flavonoid, alkaloid, dan saponin

secara fitokimia.

Uji fitokimia flavonoid dengan menambahkan 2-4 tetes HCl pekat dan serbuk Mg pada sampel. Perubahan warna terjadi diamati dari kuning tua menjadi orange atau kuning kecoklatan menjadi coklat (Achmad; 2006) dan dengan menambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ pada sampel. Reaksi positif jika memberikan perubahan dari warna kuning kecoklatan menjadi hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat (Harbone; 2007).

Uji fitokimia alkaloid dilakukan dengan cara sampel ekstrak biji mahoni ditambah dengan 5 mL kloroform dan 5 mL amoniak, kemudian dipanaskan, dikocok, dan disaring. Terhadap filtrat tersebut ditambahkan 5 tetes H₂SO₄ 2 N, kemudian dikocok perlahan selama 2-3 menit dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas diambil dan dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Kedua larutan tersebut kemudian diuji dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff. Terbentuknya endapan putih pada pengujian dengan pereaksi Mayer dan endapan jingga-merah pada pengujian dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil positif uji alkaloid (Harbone; 2007).

Uji fitokimia saponin dalam biji mahoni dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak biji mahoni dalam akuades pada tabung reaksi dan dikocok selama 15 menit. Terbentuknya busa setinggi lebih dari 1 cm dan tetap stabil selama lebih dari 15 menit menunjukkan adanya saponin (Tuti; 2007).

Metode analisis yang digunakan adalah dengan membaca spektrum dan kromatogram yang dihasilkan dari analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer IR. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat diamati kemungkinan golongan senyawa yang terkandung dalam sampel melalui munculnya puncak pada spektrum. Berdasarkan spektrum IR, dapat diamati gugus fungsi yang terdapat pada sampel yang dianalisis.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode cakram. Setiap cawan petri media NA diisi dengan kode konsentrasi yang berbeda yaitu 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 6,5% (berisi 2 paper disk). Suspensi kuman yang telah diinkubasi terlebih dahulu, diambil menggunakan jarum ose steril dengan cara dicelupkan. Jarum ose kemudian menggoreskan diatas permukaan media NA plat secara merata kurang lebih 2 kali goresan. Ekstrak senyawa yang telah disiapkan

masing-masing dicelupkan pada *paper disk* menggunakan kertas cakram dan menanamkan pada NA plat kemudian menginkubasi pada temperatur 30°C selama 24 jam. Diameter zona hambat selanjutnya diukur menggunakan penggaris. (Sabir; 2005 dan Arum; 2012).

Hasil dan Pembahasan

Simplisia biji mahoni diperoleh dengan cara menghaluskan biji mahoni menggunakan blender hingga menjadi serbuk, serbuk simplisia biji mahoni kemudian dikeringkan dengan suhu ruang selama kurang lebih seminggu untuk mengurangi kadar air. Isolasi senyawa flavonoid dari biji mahoni dilakukan dengan proses maserasi perendaman menggunakan *n*-heksana. Setelah di ekstraksi dengan *n*-heksana kemudian dimaserasi dengan metanol teknis selama 3x24 jam. Filtrat metanol dievaporasi dengan suhu 60°C sehingga didapatkan ekstrak pekat metanol. Setelah didapatkan ekstrak pekat metanol adalah melakukan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dan air. Pada fraksinasi pelarut, terdapat ekstrak yang tidak larut sehingga dilakukan pemisahan sehingga senyawa yang dapat larut terpisah dengan ekstrak yang tidak larut. Senyawa yang dapat larut merupakan fraksi etil asetat yang selanjutnya akan dilakukan evaporasi kembali dengan suhu 70°C kembali untuk mendapatkan ekstrak kering etil asetat.

Selanjutnya dilakukan uji senyawa aktif pada ekstrak kering etil asetat. Pada uji flavonoid sampel berwarna kuning kecoklatan menjadi coklat dan kuning kecoklatan menjadi hijau tua menunjukkan adanya flavonoid.

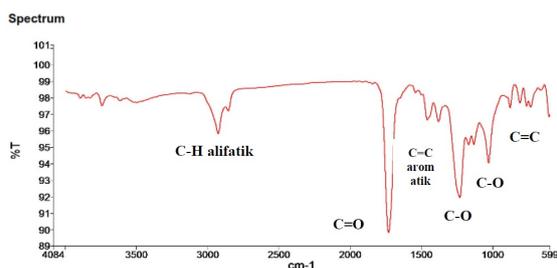
Tabel 1. Hasil uji fitokimia senyawa aktif pada ekstrak kering etil asetat

Kandungan kimia	Reagen	Hasil	Keterangan
Flavonoid	HCl pekat + serbuk Mg	+	Kuning kecoklatan menjadi coklat
	FeCl ₃	+	Kuning kecoklatan menjadi hijau tua
Saponin	Akuades	-	Tidak terdapat busa yang stabil selama 15 menit
Alkaloid	Pereaksi mayer	-	Tidak terdapat endapan putih
	Pereaksi Dragendorff	-	Tidak terdapat endapan jingga-merah

Hasil isolasi diuji kebenaran strukturnya menggunakan spektrofotometer inframerah (IR) yang didasarkan pada serapan gugus fungsi pada bilangan gelombang tertentu yang diserap.

Berdasarkan interpretasi spektrum IR flavonoid diketahui terdapat beberapa serapan karakteristik. Puncak 2928,62 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C-H alifatik yang diperkuat dengan adanya serapan pada daerah bilangan

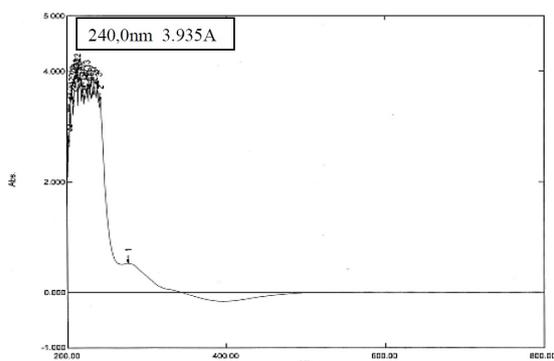
gelombang 1379,4 dan 759,89 cm^{-1} yang menunjukkan adanya C-H alifatik dan C-H aromatik. Puncak 1730,56 dan 1457,66 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O dan C=C aromatik. Puncak 1229,73 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O, hal ini diperkuat oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 1027,13 cm^{-1} yang menunjukkan pula C-O. Puncak 875,53 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C. Berdasarkan spektrum hasil IR tersebut disimpulkan bahwa senyawa yang dianalisis adalah senyawa flavonoid golongan isoflavon.



Gambar 1. Spektrum IR flavonoid

Tabel 2. Interpretasi spektrum IR flavonoid

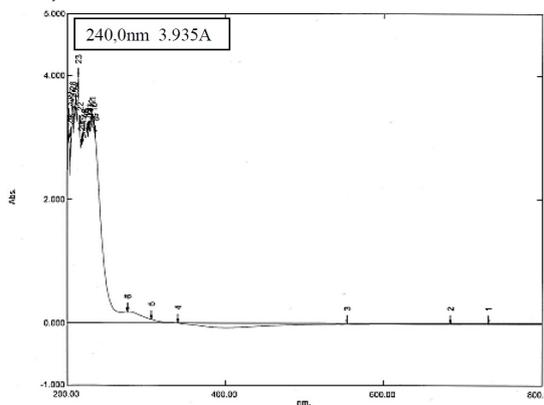
No	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Interpretasi
1	2928,62	C-H alifatik
2	1730,56	C=O
3	1457,66	C=C aromatik
4	1379,4	C-H alifatik
4	1229,73	C-O
5	1027,13	C-O
6	875,53	C=C
7	759,89	C-H aromatik



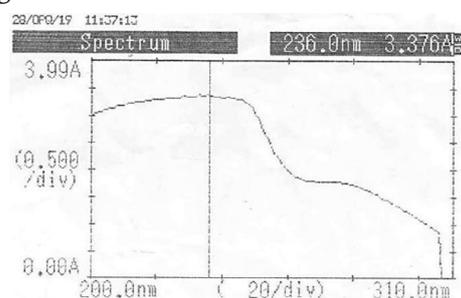
Gambar 2. Spektrum UV-Vis A dengan sampel yang sama

Berdasarkan hasil analisis spektrum UV-Vis yang dilakukan tiga kali menunjukkan hasil yang tidak jauh secara signifikan yaitu terdapat adanya satu pita serapan yang terletak pada panjang gelombang 240 nm dengan absorbansi 3,935 A dan 236 nm dengan absorbansi 3,376 A. Dari hasil spektrum yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid hasil isolasi dari biji mahoni merupakan golongan isoflavon, karena senyawa isoflavon mempunyai rentang serapan pada panjang gelombang 236

nm-260 nm. (Markham; 1988 dan Soetjipto; 2003).

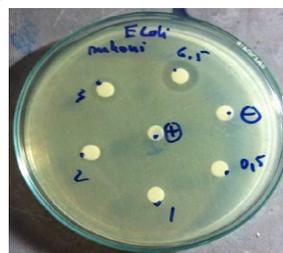


Gambar 3. Spektrum UV-Vis B dengan sampel yang sama



Gambar 4. Spektrum UV-Vis C dengan sampel yang sama

Setelah senyawa flavonoid dianalisis menggunakan IR dan UV-Vis kemudian diuji kemampuannya sebagai penghambat bakteri patogen pada manusia jenis *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian aktivitas antibakteri ini dilakukan pada konsentrasi 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 dan 6,5% diharapkan mampu menghambat aktivitas kedua bakteri tersebut. Uji antibakteri dilakukan menggunakan menggunakan metode cakram dan hasil uji antibakteri disajikan pada Gambar 5 dan 6.



Gambar 5. Zona hambat senyawa flavonoid terhadap *Escherichia coli*

Kontrol positif yang digunakan adalah wipol. Digunakannya wipol sebagai kontrol positif yaitu sebagai pembanding yang bertujuan untuk membandingkan apakah ekstrak senyawa yang digunakan sebagai antibakteri mempunyai efek antibakteri yang sebanding atau lebih kecil dari pada antibiotik standar.

Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest yang dimaksudkan adalah kontrol tanpa perlakuan. Beberapa senyawa kimia utama yang bersifat sebagai antibakteri adalah alkohol, fenol, logam berat dan senyawanya, zat warna, deterjen (Jawetz, *et al.*; dalam Kusuma; 2009). Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat menyebabkan denaturasi protein sehingga merusak dinding sel.



Gambar 6. Zona hambat senyawa flavonoid terhadap *Staphylococcus*

Tabel 3. Hasil pengukuran zona hambat senyawa flavonoid terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Senyawa	Konsentrasi (%)	Diameter zona bening (mm)	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Flavonoid	0,5	0	0
	1,0	0	0
	2,0	8,5	0
	3,0	10,0	0
	6,5	13,5	0
Wipol (kontrol +)	100	0	9
Aquadest (kontrol -)	-	0	0

Terjadinya penghambatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri diduga disebabkan karena kerusakan yang terjadi pada komponen struktural membran sel bakteri. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa atau ion) melalui membran sel sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya (Wulandari; 2006).

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa senyawa flavonoid terhadap *Escherichia coli* mempunyai daya hambat yang paling tinggi. Hasil pada Tabel 3 menunjukkan bahwa senyawa flavonoid mempunyai konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi 6,5% terhadap *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 13,5 mm dan tidak mempunyai daya hambat pada *Staphylococcus aureus*. Senyawa antibakteri dapat dikatakan menghambat pertumbuhan bakteri pada diameter zona hambat 2 mm (Proestos; 2005).

Ekstrak biji mahoni dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan

kategori hambat kuat seperti dalam penelitian Rita (2010) menyatakan bahwa apabila zona hambat terbentuk pada difusi agar berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Hal ini disebabkan karena struktur dan komposisi pada dinding sel *Escherichia coli* yang berbeda dengan *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif dengan kandungan peptidoglikan pada dinding sel lebih tipis (Sunatmo; 2009). Terdapat protein porin pada membran luar dinding sel *Escherichia coli* yang berfungsi sebagai saluran keluar masuknya senyawa aktif, sehingga senyawa flavonoid pada ekstrak biji mahoni akan mudah masuk dan merusak aktivitas enzim sel yang menyebabkan kerusakan sel *Escherichia coli* selain itu, adanya kandungan lipid pada dinding sel mampu memperbesar permeabilitas dinding sel (Sunatmo; 2009). Berbeda dengan bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri Gram positif yang memiliki peptidoglikan pada dinding sel lebih tebal sehingga membentuk suatu struktur kaku sehingga sulit ditembus oleh senyawa antibakteri (Jawetz, *et al.* dalam Kusuma; 2009), sedangkan pada kontrol positif menunjukkan daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Terbentuknya zona bening disekitar *paper disk* pada cawan petri menunjukkan terjadinya penghambatan pertumbuhan koloni bakteri akibat pengaruh dari senyawa antibakteri dalam senyawa flavonoid. Perbedaan daya hambat dari masing-masing senyawa terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diduga disebabkan perbedaan kemampuan antibakteri dari senyawa uji.

Simpulan

Senyawa flavonoid hasil isolasi dari biji mahoni merupakan golongan isoflavon dengan ditunjukkan adanya gugus fungsi C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O, C=C, dan C-H aromatik pada spektrofotometer IR serta munculnya puncak spektrum pada panjang gelombang 240 nm dan 236 nm pada spektrofotometer UV-Vis. Senyawa flavonoid hasil isolasi dari biji mahoni paling kuat sebagai antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi hambat minimum 6,5% sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* tidak menunjukkan adanya daya hambat. Ini berarti potensi antibakteri senyawa flavonoid hasil isolasi biji mahoni terhadap bakteri Gram negatif.

Daftar Pustaka

- Achmad, S.A. 2006. *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Karunia Jakarta Universitas Terbuka
- Arum, Y.P. 2012. *Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (Muntingia calabura)*. Semarang: FMIPA UNNES
- Dalimartha, S. 2006. *Biji Mahoni (Swietenia mahagoni Jacq) Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. 2: 131-134, Trubus Agriwidya. Jakarta
- Harborne, J.B. 2007. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Alih Bahasa oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Bandung: ITB
- Kusuma, S.A.F. 2009. *Staphylococcus aureus*. Makalah. Jatinangor: Universitas Padjajaran. Fakultas Farmasi
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB
- Mursiti, S. 2009. *Isolasi, karakterisasi, dan uji aktivitas hipoglikemik senyawa dalam biji mahoni bebas minyak dan minyak biji mahoni (Swietenia Macrophylla King)*
- Prawiroharsono, S. 2011. *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*. Yogyakarta: FMIPA UGM
- Proestos, C. 2005. *Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity*.
- Rita, W.S. 2010. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih*. Bandung: ITB
- Sabir, A. 2005. *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp terhadap Bakteri Streptococcus mutans (in vitro)*. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
- Sukadana, I.M. 2012. *Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid dari Buah Belimbing Manis (averrhoa carambola linn.l)*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana
- Sunatmo, T.I. 2009. *Mikrobiologi Esensial*. Mikrobiologi IPB. Bogor
- Tuti, S.S. 2007. *Penjaringan Senyawa Anti Kanker pada Kulit Batang Kayu Mahoni (Swietenia Mahagoni jacq) dan Uji Aktivasnya terhadap Larva Udang (artenia salina leach)*.
- Wulandari, S. 2006. *Bioaktivitas Ekstrak Jahe (Zingiber Officinale Roxb) dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni Bakteri Escherichi coli dan Bacillus subtilis*, Riau: Laboratorium Pendidikan Biologi FMIPA FKIP Universitas Riau