

ISOLASI DAN UJI DAYA ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*)

YP Arum, Supartono, Sudarmin

Jurusan Kimia, FMIPA UNNES, Indonesia
Gedung D6 lantai 2 Kampus Sekaran Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima 15 Juli 2012
Disetujui 23 September 2012
Dipublikasikan Oktober 2012

Keywords:
Muntingia calabura
flavonoids
antibacterial
compounds isolation

Abstrak

Daun kersen mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid yang merupakan senyawa obat dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antimikroba ekstrak daun kersen terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Metode penelitian yang digunakan adalah mengisolasi senyawa flavonoid dari daun kersen dengan menggunakan larutan etanol dan metanol. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menggunakan IR dan UV-Vis. Selanjutnya sifat antibakteri flavonoid diujikan pada bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak hasil isolasi daun kersen merupakan senyawa flavonoid berupa auron, flavonol, dan flavon. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya puncak pada spektrum UV-Vis di daerah panjang gelombang 382 nm, 350 nm dan 323 nm serta diperkuat dengan munculnya serapan khas C=O dan -OH pada spektrum IR. Ekstrak hasil isolasi daun kersen dengan pelarut etanol dan metanol memiliki daya hambat terhadap bakteri yakni terbukti mempunyai sifat antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kersen semakin tinggi pula daya hambatnya terhadap bakteri. Ekstrak yang paling efektif menghambat bakteri adalah pada ekstrak dengan konsentrasi 96% dengan pelarut metanol.

Abstract

Cherry leaves can be used as a drug because it contains of flavonoid compounds, which contain antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory. The study was aimed to determine the antimicrobial strength of cherry leaf extract against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*. This research used flavonoid compound from cherry leaves isolation method by using ethanol and methanol solvent. IR and UV-Vis was used to identify flavonoid, then flavonoid antibacterial properties was tested to *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus* bacteria. The result showed that isolation of cherry leaf extract containing flavonoid compounds of auron, flavonols, and flavones. This was shown from the peak presence in UV-Vis spectrum of 382 nm, 350 nm, and 323 nm wavelength and the appearance of absorption characteristic of C=O and -OH in IR spectrum. It turns out that cherry leaf isolation extract with ethanol and methanol has inhibitory capacity and antibacterial characteristics towards *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus* bacteria. So, the higher concentration of cherry leaf extracts the higher inhibition of bacteria, while the most effective extract concentration with methanol solvent is 96%.

Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang terkenal dengan keanekaragaman tanamannya yang dapat digunakan sebagai obat. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai obat berupa daun, batang, buah, bunga dan akar (Peoloengan et al. 2006). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah kersen. Menurut cerita rakyat Peru, daun kersen dapat direbus atau direndam dalam air untuk mengurangi pembengkakan kelenjar prostat, sebagai obat untuk menurunkan panas, menghilangkan sakit kepala, flu dan mengobati penyakit asam urat, selain itu juga dapat dimanfaatkan sebagai antiseptik, antioksidan, antimikroba, antiinflamasi (mengurangi radang), antidiabetes, dan antitumor (Siddiqua et al. 2010).

Melalui pendekatan tersebut dapat diasumsikan bahwa dalam daun kersen terkandung senyawa antimikroba. Menurut Ahmad Ridwan dan Rakhmi Ramdani, seorang periset di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung mengatakan bahwa daun kersen dapat digunakan sebagai antidiabetes dan mampu menghambat aktivitas bakteri penyebab penyakit karena diduga mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol alam dan merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol dan metanol. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi karena mampu menghambat aktivitas bakteri penyebab penyakit.

Hasil uji fitokimia pendahuluan terhadap ekstrak metanol daun kersen diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin dan steroid (Amiruddin 2007). Berdasarkan pendekatan yang mengasumsikan bahwa daun kersen mengandung senyawa antimikroba dan senyawa flavonoid, serta hasil uji fitokimia pendahuluan terhadap ekstrak kental metanol yang menunjukkan salah satunya mengandung senyawa flavonoid, maka dalam penelitian ini dilakukan isolasi senyawa flavonoid dan uji daya antimikroba terhadap bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, dan *B. subtilis*.

Metode

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: cawan petri, alat-alat gelas, jarum ose, lampu spiritus, pinset, timbangan digital, inkubator, alat ekstraksi soxhlet 500 mL, ayakan 50 mesh, penggaris, spektrofotometer Infra Red (IR, Shimadzu FTIR-8201 PC), dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: HCl, Mg, daun kersen, n-heksana, kloroform, etanol dan metanol. Media NA dan NB. Bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphilococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*.

Adapun prosedur kerja yang dilakukan sebagai berikut. Sekitar 75 gram serbuk daun kersen kering diekstrak dengan menggunakan soxhlet berturut-turut dengan pelarut n-heksana, kloroform, etanol dan metanol sampai semua komponen terekstraksi. Masing-masing ekstrak yang diperoleh dipekatkan dan diuji kandungan flavonoidnya. Ekstrak yang positif terhadap flavonoid selanjutnya dianalisis menggunakan alat spektrofotometer UV-vis dan Inframerah serta diuji daya antimikroba terhadap bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, dan *S. aureus*.

Hasil dan Pembahasan

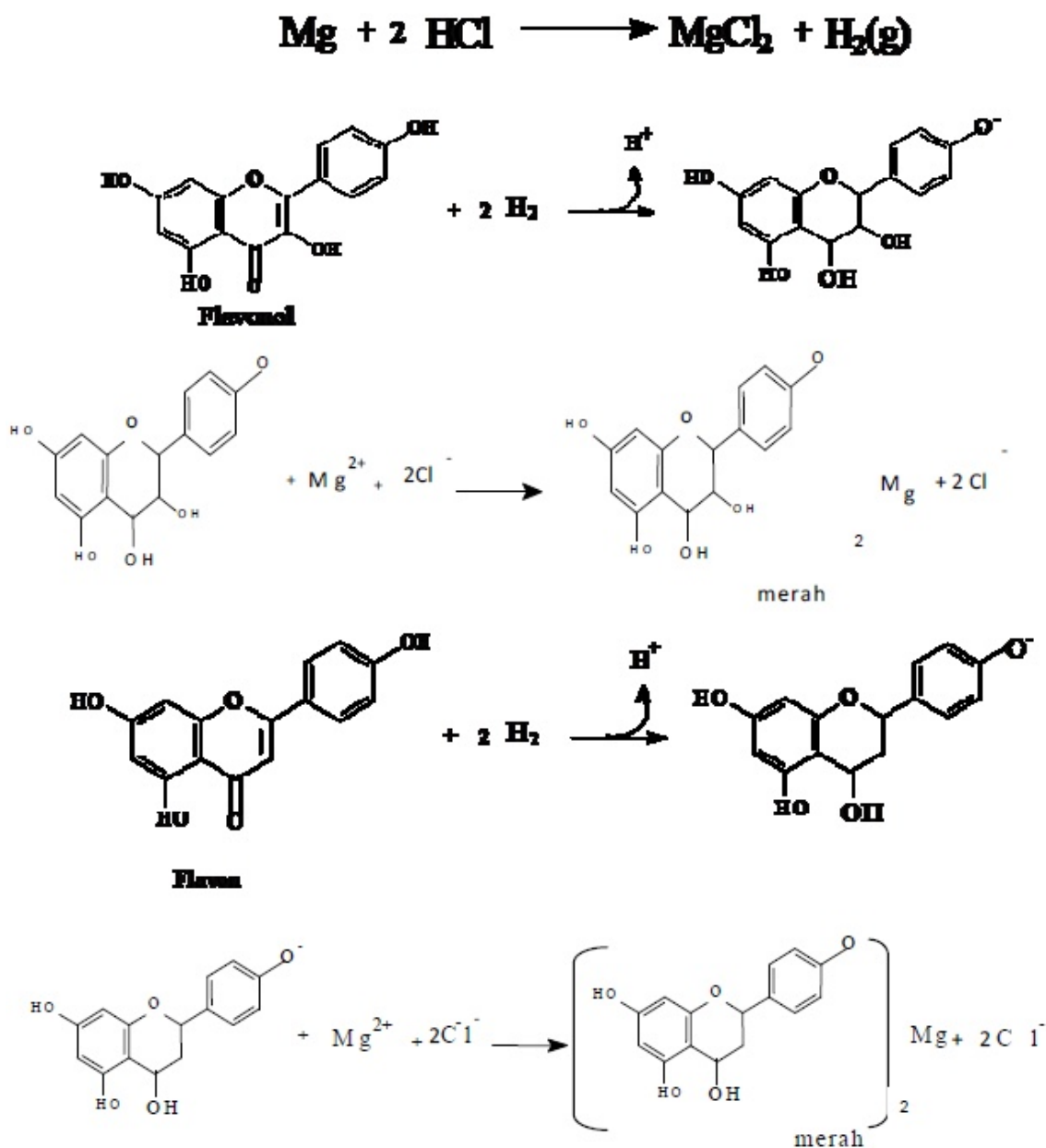
Daun kersen yang telah kering dan halus mula-mula diuji kandungan fitokimianya. Hasil pengamatan uji fitokimia serbuk daun kersen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan uji fitokimia serbuk daun kersen

No.	Konstituen	Daun Kersen
1	Flavonoid	++
2	Triterpenoid	+
3	Alkaloid	-
4	Saponin	+
5	Steroid	+

Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, maka senyawa yang diisolasi dari daun kersen adalah senyawa flavonoid karena hasil uji terhadap flavonoid menunjukkan hasil yang positif. Ekstraksi dilakukan dengan pelarut n-heksana, kloroform, etanol, dan metanol. Masing-masing ekstrak yang diperoleh kemudian diuji terhadap flavonoid yaitu dengan mereaksikan ekstrak tersebut dengan HCl pekat dan serbuk Mg. Ekstrak n-heksana dan ekstrak kloroform menunjukkan hasil yang negatif terhadap flavonoid karena tidak menghasilkan warna merah sedangkan ekstrak etanol dan

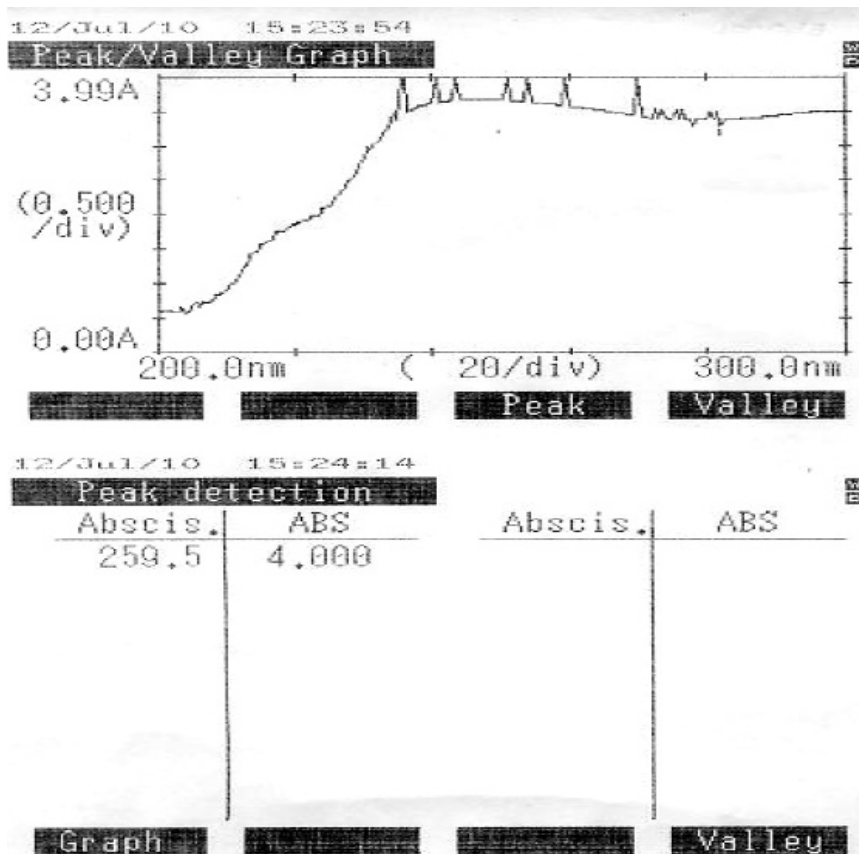
metanol positif terhadap flavonoid dengan dengan HCl dan serbuk Mg. Reaksi flavonoid terbentuknya warna merah setelah direaksikan dapat dijelaskan pada Gambar 1.



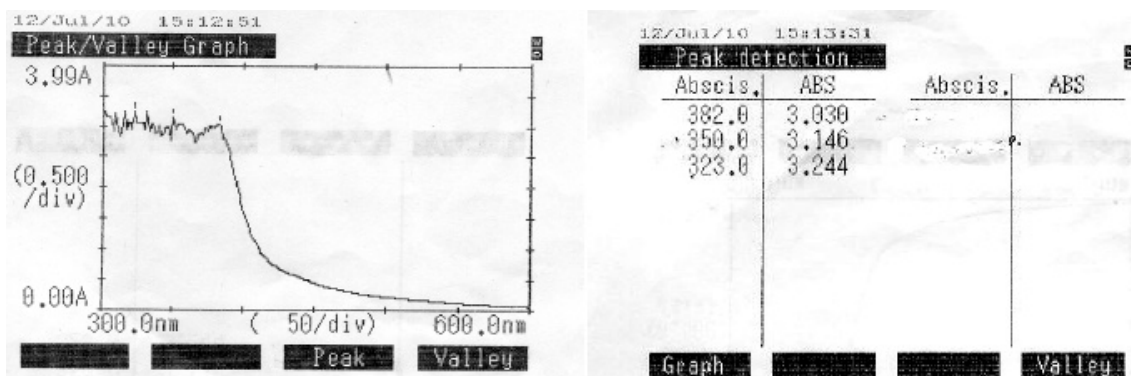
Gambar 1. Reaksi flavonoid

Ekstrak daun kersen dengan pelarut etanol dan metanol yang positif terhadap flavonoid kemudian diuji strukturnya dengan UV-vis dan IR. Spektrum UV-Vis dari ekstrak etanol dan metanol dipaparkan pada Gambar 2 dan Gambar 3. Spektrum UV-vis ekstrak etanol (Gambar 2) menunjukkan satu puncak pada 259,5 nm dan dari ekstrak metanol (Gambar 3)

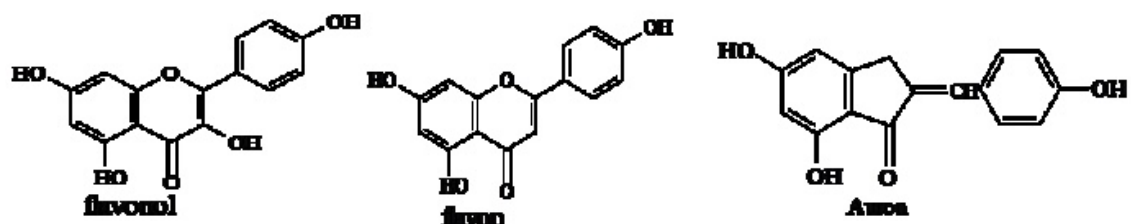
diperoleh tiga puncak pada 382 nm, 350 nm, dan 323 nm. Berdasarkan serapan tersebut, diduga senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun kersen menggunakan etanol dan metanol termasuk golongan auron, flavonol, dan flavon (Markham 1988). Struktur senyawa dari auron, flavonol, dan flavon tertera pada Gambar 4.



Gambar 2. Spektrum UV-Vis ekstrak etanol



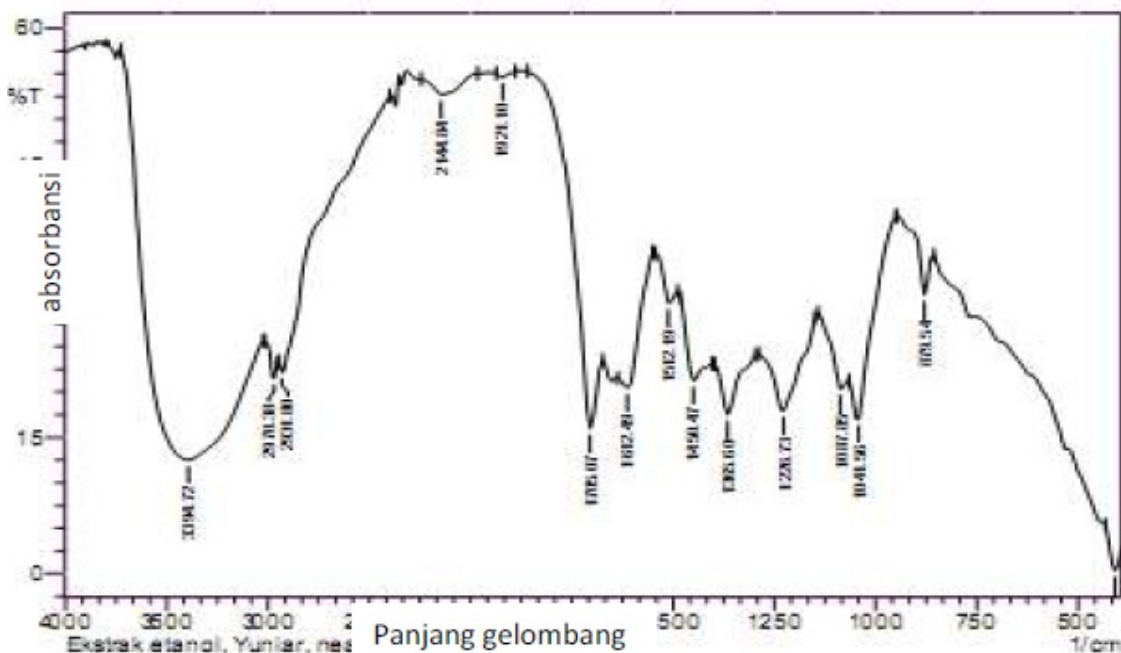
Gambar 3. Spektrum UV-Vis ekstrak methanol



Gambar 4. Struktur auron, flavonol, dan flavon

Dugaan golongan auron, flavonol, dan flavon dari ekstrak juga didukung oleh data spektrum inframerah ekstrak etanol yang menunjukkan adanya serapan C=O pada daerah bilangan gelombang 1705,07 cm⁻¹ dan gugus OH pada 3394,72 cm⁻¹ dan spektrum inframerah metanol yang menunjukkan adanya gugus OH pada 3417,86 cm⁻¹. Spektra IR

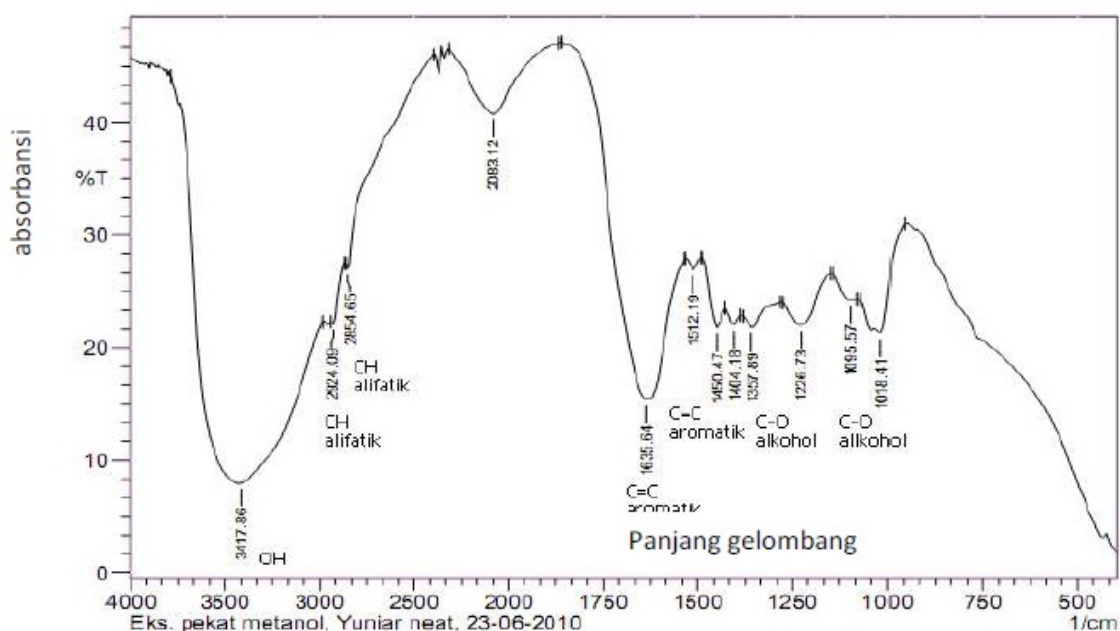
ekstrak etanol daun kersen ditunjukkan pada Gambar 5, sedangkan keterangan lebih lengkap mengenai gambar tersebut disajikan dalam Tabel 2. Hasil IR ekstrak metanol daun kersen seperti tertera pada Gambar 6, sedangkan keterangan lebih lengkap mengenai gambar tersebut di atas disajikan dalam Tabel 3.



Gambar 5. Spektrum inframerah ekstrak pekat etanol

Tabel 2. Analisis spektrum inframerah senyawa ekstrak pekat etanol

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Bentuk Pita	Kemungkinan Gugus Fungsi
	Pada Spektra	Pada Pustaka (Sastrohamidjojo 1997; Silverstein <i>et al.</i> 1991)		
1	3394,72	3500-3000	Melebar	-OH
2	2970,38	2950-2800	Tajam	-CH alifatik
	2931,80		Tajam	
3	1705,07	1850-1730	Tajam	-C=O
4	1612,49	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
	1512,19		Tajam	
	1450,47		Tajam	
5	1365,60	1300-1000	Tajam	-C-O alcohol
	1226,73		Tajam	
	1087,85		Tajam	
	1041,56		Tajam	
6	879,54	840-800	Tajam	-CH aromatic



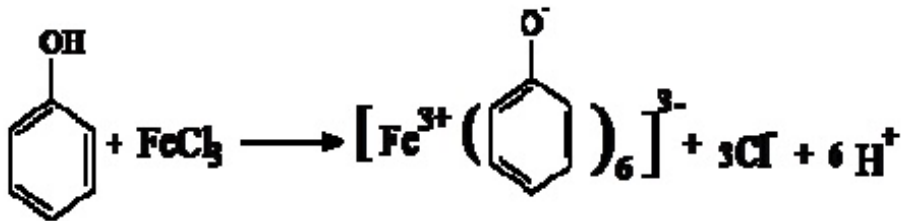
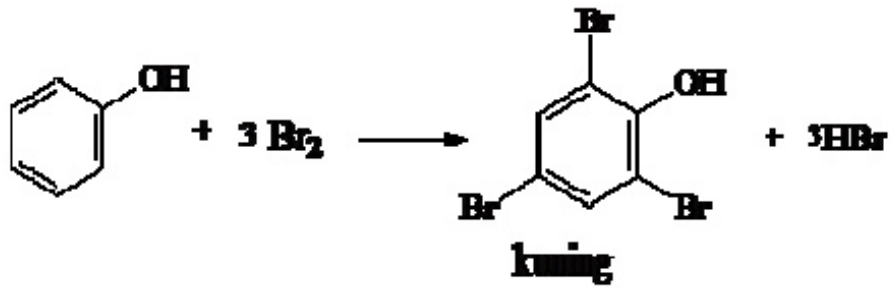
Gambar 6. Spektrum Inframerah ekstrak pekat etanol

Tabel 3. Analisis spektrum inframerah senyawa ekstrak pekat methanol

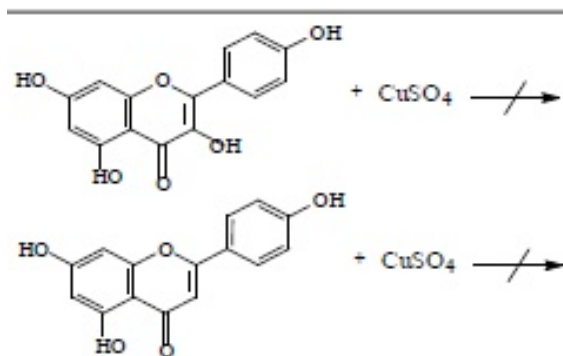
No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Bentuk Pita	Kemungkinan Gugus Fungsi
	Pada Spektra	Pada Pustaka (Sastrohamidjojo, 1997; Silverstein <i>et al.</i> 1991)		
1	3417,86	3500-3000	Melebar	-OH
2	2924,09	2950-2800	Sedang	-CH alifatik
	2854,65		Sedang	
3	1635,64	1650-1400	Melebar	-C=C aromatik
	1512,19		Tajam	
	1450,47		Tajam	
	1404,18		Tajam	
4	1357,89	1300-1000	Tajam	-C-O alkohol
	1226,73		Melebar	
	1095,57		Sedang	
	1018,41		Sedang	

Dalam menentukan struktur flavonoid, selain uji struktur dengan IR dan UV-vis juga dilakukan uji dengan reaksi kimia seperti uji dengan Br₂, dan FeCl₃, serta reagen Tollens dan reagen Fehling. Uji dengan Br₂ dan FeCl₃ digunakan untuk membedakan gugus OH antara OH fenol dan OH alkohol, sedangkan uji dengan reagen Tollens dan reagen Fehling untuk membedakan gugus karbonil keton dan aldehyd.

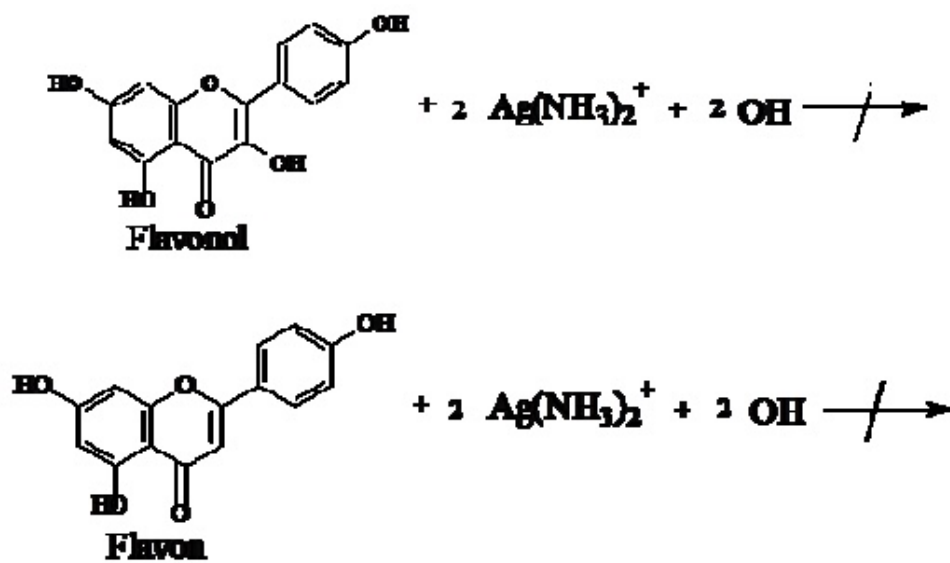
Hasil pengamatan pada reaksi antara ekstrak daun kersen dengan Br₂ dan FeCl₃ menunjukkan terbentuknya warna kuning pada reaksi dengan Br₂ dan warna hijau kehitaman pada reaksi dengan FeCl₃ sehingga ekstrak mengandung gugus OH dari fenol. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Uji dengan Br₂ dan FeCl₃ (reaksi fenol dengan Br₂ dan reaksi fenol dengan FeCl₃)



Gambar 8. Reaksi dengan reagen Fehling



Gambar 8. Reaksi dengan reagen Tollens

Ekstrak daun kersen tidak bereaksi dengan reagen Tollens ditunjukkan dengan tidak terbentuknya cermin perak. Ekstrak daun kersen juga tidak bereaksi dengan reagen Fehling ditunjukkan dengan tidak terbentuknya endapan kuning kecoklatan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak daun kersen mengandung gugus karbonil yang tidak berasal dari senyawa aldehyd, karena reagen Fehling dan Tollens hanya bereaksi dengan aldehyd. Oleh

karena itu gugus karbonil yang mungkin adalah dari senyawa keton.

Ekstrak etanol dan metanol yang positif terhadap flavonoid (setelah diuji strukturnya dengan UV-vis dan IR) digunakan untuk uji antimikroba. Uji antimikroba tersebut dilakukan dengan waktu inkubasi 1 x 24 jam dan 3 x 24 jam. Hasil uji antimikroba dari ekstrak daun kersen dengan proses inkubasi 1 x 24 jam dapat dijelaskan pada Tabel 4.

Tabel 4. Luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri gram negatif dan gram positif setelah diinkubasi selama 1 X 24 Jam

Bakteri uji	Ekstrak	Diameter (cm)		
		Murni / 96%	75%	50%
<i>E. coli</i>	Metanol	1,2	1,1	
	Etanol	0,9	0,7	-
<i>P. aeruginosa</i>	Metanol	1,1	1,0	
	Etanol	1,0	0,7	-
<i>S. aureus</i>	Metanol	1,4	1,1	
	Etanol	1,0	0,8	-
<i>B. subtilis</i>	Metanol	0,9	0,8	
	Etanol	1,0	1,0	0,7

Tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak metanol menghasilkan diameter hambat terhadap bakteri yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol dengan daya hambat bakteri yang lebih besar terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*. Pada proses inkubasi 1x24 jam, ekstrak mulai mampu menghambat bakteri pada

konsentrasi 75%. Setelah diketahui daya hambat bakteri pada proses inkubasi 1x24 jam, proses inkubasi tersebut dilanjutkan kembali selama 3x24 jam. Hasil uji antimikroba dari ekstrak daun kersen setelah proses inkubasi 3x24 jam ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Luas daerah hambat pertumbuhan koloni bakteri gram negatif dan gram positif setelah diinkubasi selama 3 x 24 Jam

Bakteri uji	Ekstrak	Diameter (cm)		
		Murni / 96%	75%	50%
<i>E. coli</i>	Metanol	2,1	2	
	Etanol	2,1	1,8	1,6
<i>P. aeruginosa</i>	Metanol	1,1	1,0	
	Etanol	1,1	1,0	-
<i>S. aureus</i>	Metanol	1,7	1,4	
	Etanol	1,5	1,3	1,1
<i>B. subtilis</i>	Metanol	0,9	0,8	
	Etanol	1,2	1,1	0,9

Berdasarkan Tabel 4 dan 5, semakin tinggi konsentrasi pelarut maka daya hambat terhadap bakteri semakin besar dan semakin lama proses inkubasi diameter zona beningnya semakin luas. Ekstrak yang paling efektif menghambat bakteri adalah pada konsentrasi 96% dengan diameter hambat terhadap bakteri paling besar. Ekstrak metanol memiliki daya hambat terhadap bakteri yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol yakni daya hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Fraksi metanol dan etanol yang mempunyai kepekatan paling tinggi berdaya

hambat terhadap bakteri lebih kuat sehingga mempunyai diameter hambat yang lebih besar, sedangkan fraksi metanol dan etanol yang mempunyai kepekatan paling rendah menunjukkan daya hambat yang kecil. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi kadar senyawa bioaktif semakin bersifat bakterisida (agen mematikan mikroba), sedangkan kadar yang lebih rendah biasanya hanya bersifat bakteriostatik (agen yang menghambat pertumbuhan mikroba, bukan mematikan mikroba) (Volk & Wheeler 1988).

Penutup

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi daun kersen menggunakan ekstrak etanol dan metanol memiliki daya antimikroba. Senyawa flavonoid yang diperoleh adalah jenis senyawa auron, flavonol, dan flavon. Ekstrak etanol dan metanol mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* dan *B. subtilis* dengan konsentrasi yang lebih tinggi memiliki daya hambat yang lebih besar.

Daftar Pusaka

Amiruddin ZZ. 2007. Free radical scavenging activity of some plant available in Malaysia. *Iran J Pharm Therap.* 6: 87-91.
Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.

Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.

Peoloengan M, Chairul, Iyep K, & Susan MN. 2006. Aktivitas antimikroba dan fitokimia dari beberapa tanaman obat. *Seminar Nasional Teknologi*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.

Duryatmo S & Yajri F. 2009. *Kersen & Pare Kendalikan si Manis*. Jakarta: Trubus Agriwidya.

Sastrohamidjojo H. 1997. *Spektroskopi Inframerah*. Yogyakarta: UGM.

Siddiqua A, Premakuri KB, Roukiya S, Vithya & Savitha. 2010. Antioxidant activity and estimation of total phenolic content of *Muntingia calabura* by colorimetry. *Int J Chem Tech Res.* 2(1): 205-208.

Volk WA & Wheeler MF. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi V. Jilid 1. Diterjemahkan oleh Adisoemarto S. Jakarta: Erlangga.