

UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAUN MENTAWA (*Artocarpus anisophyllus* Mig.)

PHYTOCHEMICAL TEST AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF METHANOL EXTRACT OF MENTAWA LEAF (*Artocarpus anisophyllus* Mig.)

Wahyu Pratama, Chairul Saleh*, dan Winni Astuti

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

*E-mail: chairul.unmul@gmail.com

Received: 09 January 2020, Accepted: 20 August 2020

ABSTRACT

Phytochemical test and antibacterial activity of methanol extract of Mentawa leaf (*Artocarpus anisophyllus* Mig.) have been done. The extraction of Mentawa leaf samples was carried out by the maceration method using methanol as a solvent. An antibacterial activity test was carried out using the agar diffusion method. Phytochemical tests results show that methanol extract of Mentawa leaf has secondary metabolites of flavonoid, steroid, triterpenoid, phenolic, and quinone compounds. The antibacterial activity test results obtained MIC values for *Salmonella typhi* bacteria were 1.25-2.5%, *Streptococcus mutans* bacteria were 0-0,625%, *Streptococcus sobrinus* bacteria were 1.25-2.5% and for *Propionibacterium acnes* bacteria were 0.625-1.25%. Methanol extract of Mentawa leaf has broad-spectrum antibacterial activity.

Keywords: *Artocarpus anisophyllus* Mig., Antibacterial Activity, Secondary Metabolite.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi menjadi salah satu masalah kesehatan di daerah tropis seperti Kalimantan Timur. Pengobatan terhadap infeksi pada umumnya digunakan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol dapat menimbulkan resistensi mikroorganisme pada antibiotik tertentu, hal ini mendorong pentingnya penelitian tentang sumber antibakteri yang berasal dari bahan alam [1]. Ada beberapa genus *Artocarpus* yang bisa dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tumbuhan yang telah banyak dipelajari sebagai bahan obat salah satunya genus *Artocarpus* [2].

Secara empiris daun tanaman ini telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk bisul dan gatal-gatal [3]. Ekstrak kasar metanol akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) mengandung alkaloid, flavonoid, steroid dan polifenol. Ekstrak daun Mentawa memiliki aktivitas antioksidan [4]. Ekstrak metanol kayu batang *Artocarpus integer* (Thumb.) Merr. memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* [5]. Ekstrak etanol kayu nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.)

mengandung alkaloid dan flavonoid. Ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* [6]. Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun Mentawa terhadap bakteri-bakteri penyebab infeksi yang belum diteliti sebelumnya antara lain *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* dan *Propionibacterium acnes*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, blender, gelas kimia, botol maserasi, corong kaca, labu Erlenmeyer, spatula, rotary evaporator, wadah sampel, spidol, sikat tabung, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, gelas ukur, labu ukur, botol reagen, botol semprot, pipet mikro, hot plate, gunting, corong, petri dish, mikropipet, penggaris, kotak sampel, lemari Laminare, batang pengaduk, inkubator, korek, oven, pinset, bunsen dan kapas swab steril.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah daun Mentawa, aquades, tisu, kertas cakram, kertas saring, korek, metanol (CH_3OH), asam sulfat ($\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{p})}$), asam klorida ($\text{HCl}_{(\text{p})}$), spiritus, CHCl_3 , larutan FeCl_3 1%, serbuk Mg, ampicilin, media padat natrium agar (NA), bakteri *Salmonella typhi*, bakteri *Streptococcus mutans*, bakteri *Streptococcus sobrinus* dan bakteri *Propionibacterium acnes*, pereaksi Dragendroff, kapas, tissue, aluminium foil, pereaksi Meyer, pereaksi Liberman Burchard dan pereaksi Shalkowsky, wipol, sun light, spiritus, botol penyemprot.

Prosedur Penelitian

Determinasi

Determinasi daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig.) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran klasifikasi dari sampel yang akan digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian ini. Determinasi dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Persiapan sampel

Daun tumbuhan Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig) yang telah dikumpulkan, dibersihkan dengan tisu atau dilap dengan kain basah dan dikering-anginkan pada suhu ruang dan tanpa terkena paparan sinar matahari langsung. Sampel yang telah kering, dipotong kecil-kecil lalu dihaluskan dengan blender dan ditimbang sebanyak 400 gram.

Pembuatan ekstrak daun Mentawa

Sampel daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig) yang telah halus sebanyak 400 gram kemudian dimasukkan ke dalam botol maserasi, kemudian ditambahkan pelarut metanol teknis dan ditutup lalu dibiarkan selama 3 hari dan dilakukan dalam suhu ruang yang sekali-kali dikocok. Hasil maserasi tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring hingga didapatkan filtrat hasil maserasi lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan pelarut sisanya dimasukkan kembali ke dalam botol maserasi untuk proses maserasi selanjutnya hingga tidak memberi respon warna. Kemudian dilanjutkan dengan pemekatan ekstrak sampai didapat ekstrak kental daun Mentawa. Hasil ekstrak kemudian dilakukan untuk pengujian fitokimia dan uji antibakteri.

Uji fitokimia

Uji flavonoid

Ekstrak metanol daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig) ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes $\text{HCl}_{(\text{p})}$. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga [7].

Uji alkaloid

Ekstrak metanol daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig) ditambahkan dengan beberapa tetes $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{p})}$ 2 N lalu ditambah beberapa pereaksi Dragendroff (campuran $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam asam nitrat dan larutan KI). Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya larutan dan endapan orange atau coklat kemerahan [8].

Uji triterpenoid dan steroid

Ekstrak metanol daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig) ditambahkan 3 tetes pereaksi Liebermann Buchard (asetat glasial + $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{p})}$) dan ditambahkan beberapa tetes $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{p})}$. Hasil uji positif ditandai dengan warna ungu atau merah dan hasil uji positif steroid memberikan warna biru atau hijau [7].

Uji fenolik

Ekstrak metanol kasar daun mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig) ditambahkan larutan besi (III) klorida (FeCl_3) 1% beberapa tetes. Hasil uji positif ditandai warna merah, hijau, biru pekat atau hitam [7].

Uji saponin

Ekstrak etanol biji Mahoni dilarutkan dalam aquades, dikocok kuat, jika terbentuk busa ditambah 1 tetes $\text{HCl}_{(\text{p})}$. Ekstrak positif mengandung saponin jika terbentuk busa dengan ketinggian 1-3 cm yang bertahan selama 15 menit [7].

Uji kuinon

Ekstrak metanol daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig) dilarutkan dalam metanol kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dietil eter sampai menutupi sampel. Setelah itu diambil filtrat dan dimasukkan kedalam tabung reaksi lain, lalu ditambahkan dengan NaOH 5% sebanyak 3 tetes, jika terjadi perubahan warna maka ditambahkan HCl 2 N sebanyak 2-6 tetes. Bila warna berubah kembali seperti warna blanko maka menyatakan positif kuinon.

Uji aktivitas antibakteri

Sterilisasi alat dan bahan

Cawan petri, tabung reaksi, Labu Erlenmeyer, media *Nutrient Agar* (NA) serta seluruh alat dan bahan, kecuali ekstrak daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig.) yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus menggunakan kertas dan plastik HID. Alat dan bahan tersebut kemudian disterilisasi di dalam *autoklaf* selama 1 jam pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

Pembuatan media nutrient agar (NA)

Pada pembuatan media padat *Nutrient Agar* (NA), dimasukkan *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 4 gram kedalam Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 150 mL hingga homogen dan kemudian ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Dimasukkan ke dalam *autoklaf* pada suhu 121 °C pada tekanan 1 atm selama 1 jam untuk disterilisasi. Kemudian media *Nutrien Agar* yang telah disterilisasi di tuang ke dalam cawan petri yang telah steril secara aseptik di dalam *Laminar Air Flow*, dan kemudian didiamkan hingga media memadat dan *aluminium foil*. Selanjutnya disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 1 jam.

Regenerasi bakteri

Bakteri *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, dan *Propionibacterium acnes* sebelum digunakan terlebih dahulu diregenerasi ke dalam media. Sebanyak 1-2 Ose isolat biakan murni diambil dengan menggunakan jarum Ose dan diinokulasi ke dalam 5 mL media agar miring kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diperoleh biakan bakteri dalam media padat, bakteri dibiakan kembali dalam media cair. Satu sampai dua Ose isolat bakteri diambil menggunakan jarum Ose steril dan diinokulasi ke dalam media cair dan dikocok selama 24 jam. Biakan bakteri yang didapat selanjutnya digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar dengan kertas cakram. Sebanyak 20 mL *Nutrient agar* dituangkan ke dalam cawan petri dibiarkan hingga memadat. Inokulum bakteri dimasukan ke dalam cawan petri yang berisi media agar menggunakan lidi adan kapas steril. Inokulum bakteri dioleskan merata pada media agar. Kertas cakram (6 mm) diletakan pada media agar yang mengandung sampel uji dengan konsentrasi tertentu. Sebagai kontrol positif pada masing-masing cawan petri dimasukan kertas cakram yang mengandung kloramfenikol dan sebagai kontrol negatif dimasukkan kertas cakram tanpa penambahan ekstrak.

Cawan petri tadi kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37°C. Daerah bening di sekitar kertas cakram menunjukkan uji positif adanya aktivitas antibakteri. Diameter daerah (zona) bening yang diperoleh diukur dan dibandingkan dengan senyawa standar ampicilin (kontrol positif). Ekstrak yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri ini yaitu ekstrak daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig.).

Penentuan MIC

Ekstrak pekat metanol dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 0,625%; 1,25%; 2,5%; 5% dan 10%. Dimana setiap konsentrasi diuji aktivitas antibakterinya dan hasilnya dilihat dari konsentrasi paling rendah dari ekstrak metanol tersebut yang masih bisa menghambat pertumbuhan bakteri itu merupakan nilai-nilai *MIC* (*Minimum Inhibitory Concentration*).

Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan untuk aktivitas antibakteri yaitu dengan cara mengukur diameter daerah bening yang didapatkan dari masing-masing variasi konsentrasi ekstrak dan menghitung rata-rata diameter untuk menentukan nilai *MIC* (*Minimum Inhibitory Concentration*), yaitu konsentrasi terendah dari ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Davis dan Stout (1971) mengemukakan bahwa kekuatan sifat antibakteri yaitu daya hambat dengan diameter zona hambat kurang dari 5 mm tergolong lemah, diameter zona hambat antara 5-10 mm tergolong rendah, diameter 10-20 mm tergolong kuat dan diameter zona hambat lebih dari 20 mm tergolong sangat kuat [9].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig.)

Dari 400 gram sampel daun Mentawa yang digunakan, diperoleh ekstrak metanol daun Mentawa sebanyak 17,048 gram, sehingga rendemen yang proses ekstraksi ini adalah 4,2%.

Tabel 1. Rendemen hasil ekstrak metanol daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig.).

Ekstrak	Massa (gram)	Rendemen (%)
Metanol	17,048 gram	4.2

Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak metanol Daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig.) diketahui jenis senyawa metabolit sekunder pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig.).

Jenis Senyawa	Ekstrak Metanol
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Triterpenoid	+
Steroid	+
Saponin	-
Fenolik	+
Kuinon	+

Berdasarkan pada hasil uji fitokimia maka diketahui bahwa pada ekstrak metanol daun Mentawa positif terdapat flavonoid, triterpenoid, steroid, fenolik dan kuinon.

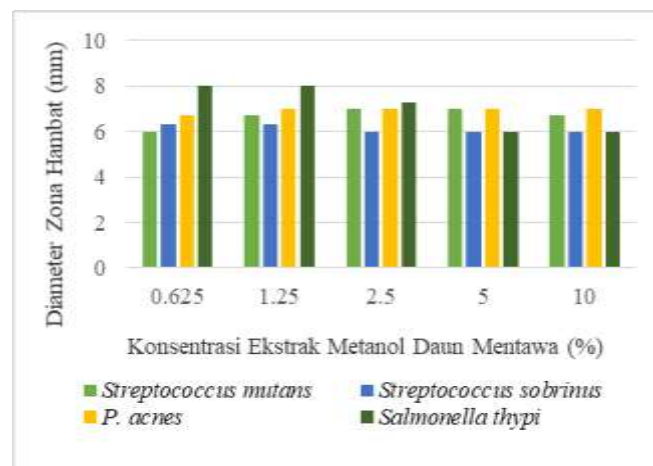
Uji Aktivitas Antibakteri

Pada uji aktivitas antibakteri dilakukan secara aseptik. Metode yang digunakan yaitu metode difusi agar, yaitu dengan mencelupkan cakram pada larutan ekstrak metanol daun Mentawa hingga ke seluruh cakram, kemudian diletakkan diatas media agar yang telah ditanami bakteri uji sehingga terdifusi pada media agar tersebut. Hasil aktivitas antibakteri dapat diamati dengan melihat adanya zona bening yang terdapat pada permukaan media agar. Pemilihan metode difusi cakram ini karena lebih mudah dan sederhana untuk dilakukan dalam menentukan aktivitas antibakteri dari sampel yang diuji.

Pada penelitian ini digunakan bakteri *Salmonella typhi*, mewakili Gram negatif dan *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* dan *Propionibacterium acnes* yang mewakili bakteri Gram positif. Kedua kelompok bakteri ini digunakan untuk mengetahui spektrum dari senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak metanol daun Mentawa. Apabila ekstrak metanol daun Mentawa dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif maka ekstrak tersebut disebut memiliki spektrum kerja yang luas, sedangkan jika spektrum sempit berarti hanya dapat menghambat salah satu dari kelompok bakteri tersebut.

Ampisilin berperan sebagai kontrol positif. Dimana ampicilin memiliki zona hambat yang besar terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* dan *Propionibacterium acnes*. Ampisilin digunakan sebagai pembanding karena merupakan jenis antibiotik yang sering digunakan dan memiliki spektrum luas, yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Mekanisme kerja ampicilin adalah menghambat sintesis protein yang dibutuhkan untuk pembentuk sel-sel bakteri dengan menghambat fungsi RNA dari bakteri. Sedangkan pada kontrol negatif digunakan pelarut metanol yang dimana tidak memiliki aktivitas antibakteri. Digunakan metanol sebagai kontrol negatif karena semua larutan ekstrak dibuat dengan dilarutkan pada metanol. Cakram dicelupkan pada metanol, lalu dikeringkan dan diletakkan pada agar yang telah ditanami bakteri uji. Hasil yang diperoleh menunjukkan kontrol negatif tidak memiliki zona hambat pada bakteri *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* dan *Propionibacterium acnes*.

Pada Gambar 1 aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji Mahoni (*Swetenia mahagoni* (L) Jacq) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan bakteri *Salmonella typhi*.



Gambar 1. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* dan *Propionibacterium acnes*.

Hasil uji aktivitas antibakteri bahwa ekstrak metanol daun Mentawa memiliki spektrum yang luas. Ekstrak metanol daun Mentawa dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* dan *Propionibacterium acnes* sebagai bakteri Gram positif dan bakteri *Salmonella typhi* sebagai bakteri Gram negatif maka termasuk dalam spektrum yang luas. Daya hambat yang terbentuk ≥ 20 mm dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat, 10-20 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat kuat, 5-10 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat sedang dan ≤ 5 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat lemah [9]

Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa bakteri *Salmonella typhi* (Gram negatif) lebih besar zona hambatnya dibandingkan dengan bakteri *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* dan *Propionibacterium acnes* (Gram positif). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Mentawa lebih mudah menghambat bakteri Gram negatif dibandingkan bakteri Gram positif

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun Mentawa terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* dan *Propionibacterium acnes* menunjukkan zona bening pada konsentrasi 0,625 %, 1,25 %, 2,5%, 5% dan 10% tidak jauh berbeda yaitu tergolong sedang. Pada penelitian ini parameter yang digunakan adalah nilai MIC (*Minimum Inhibitory*

Concentration). Untuk mengetahui nilai MIC dilakukan dengan membuat variasi konsentrasi pada ekstrak metanol, tiap konsentrasi diuji aktivitas antibakteri dimana konsentrasi terkecil yang masih mempunyai aktivitas antibakteri ditentukan sebagai MIC. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa MIC ekstrak metanol daun Mentawa untuk bakteri *Salmonella thypi* sebesar 1,25-2,5%, MIC untuk bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 0-0,625%, MIC untuk bakteri *Streptococcus sobrinus* 1,25-2,5% dan MIC untuk bakteri *Propionibacterium acnes* sebesar 0,625-1,25%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia dan uji aktivitas antibakteri dapat disimpulkan Senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak metanol daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus* Mig) yaitu senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid, fenolik dan kuinon dan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak metanol daun Mentawa terhadap bakteri *Salmonella typhi* yaitu pada konsentrasi 1,25-2,5%, MIC terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yaitu pada konsentrasi 0-0,625%, MIC terhadap bakteri *Streptococcus sobrinus* yaitu pada konsentrasi 1,25-2,5%, dan MIC terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu pada konsentrasi 0,625-1,25%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Presetyawan A. 2011. *Aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun Senggani (Melastoma Affine D. Don) terhadap S. aureus, E. coli dan C. albicans*. Universitas Muhammadiyah: Surakarta.
- [2] Rosmawaty dan Hellna, T. 2013. Screening of phytochemicals and bioactivity test of the leaves breadfruit skrining fitokimia dan uji bioaktivitas daun sukun. *Ind. J. chem. Res.* 1:28-32.
- [3] Yaniv Z dan Bachrach U. 2005. *Handbook of medicinal plants*. Food Product Press, Oxford, pp:10-12.
- [4] Mulyani S. Ardiningsih P dan Afghani J. 2016. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*). 5(1):36-43.
- [5] Zakaria, Soekamto N. H., Syah Y. M., dan Firdaus. 2017. Aktivitas antibakteri dari fraksi *Artocarpus interger* (Thumb.) Merr. dengan metode difusi agar. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*. 12(2):1-6. Makassar: Universitas Hasanuddin
- [6] Pratiwi S. R., Tjiptasurasa, dan Wahyuningrum R. 2011. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. *Pharmacy*. Vol.08.
- [7] Harborne J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- [8] Sarker S. D dan Nahar L. *Kimia untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Organik Alam dan Umum*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar.
- [9] Davis W. W. dan Stout T. R. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*. 22 (4): 659-665.