

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS EKSTRAK DAUN *Muntingia calabura* SEBAGAI KANDIDAT BAHAN HAND SANITISER

Santy Pristianingrum, Baiq Lely Zainiati, Iwan Doddy Dharmawibawa

Abstrak: Pemanfaatan zat aktif antibakteri dari beberapa jenis tumbuhan semakin berkembang bukan hanya sebagai bahan obat saja, pemanfaatannya juga banyak sebagai bahan antibakteri untuk tindakan preventif salah satunya *hand sanitiser*. Penelitian bersifat eksperimen ini bertujuan mencari sumber alternatif zat aktif antibakteri dari tanaman *Muntingia calabura* untuk dimanfaatkan sebagai bahan *hand sanitiser*. Data yang didapatkan dianalisa secara deskriptif, berupa kemampuan daya hambat ekstrak etanol absolute dan etanol 95% daun *M.calabura* terhadap bakteri isolate klinik dengan metode Kirby bauer dan jenis senyawa yang terkandung dalam daun *M.calabura* melalui kromatografi lapis tipis menggunakan eluen n-hexan-metanol. Hasil ekstrak etanol absolute daun *M.calabura* menunjukkan rata-rata penghambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* 15.67 mm, *Staphylococcus aureus* 19.33 mm dan *Escherichia coli* 13 mm, sedangkan hasil ekstrak metanol 95% menunjukkan hasil penghambatan lebih tinggi *Pseudomonas aeruginosa* 19.67 mm, *Staphylococcus aureus* 19.33 mm dan *Escherichia coli* 16.67 mm. Zona hambat ini sedikit lebih rendah dari chlorhexidine gluconate dengan rata-rata 20-24 mm terhadap tiga bakteri yang digunakan dalam uji namun masuk dalam kategori sensitif kuat untuk bahan alam menurut Mukherjee (1988). Dari profil KLT dengan eluen n-hexan : methanol ditemukan tiga senyawa yang berada pada kisaran nilai Rf 0.4; 0.5 dan 0.7. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa zat bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol 95% daun *M.calabura* dapat di optimalisasi lebih lanjut sebagai kandidat bahan aktif *hand sanitiser*.

Kata Kunci: Daun *Muntingia calabura*, Aktivitas Antibakteri, Hand Sanitiser.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND THIN LAYER CHROMATOGRAPHY PROFILE *Muntingia Calabura* LEAF EXTRACT AS A MATERIAL CANDIDATE HAND SANITIZER

Abstract : the utilization of antibacterial active substances from several plants is increasingly not only as the ingredients of medicine, but its utilization is also utilized for an antibacterial ingredient for preventive action, one of them is hand sanitizer material. This research focused to find the antibacterial active substances alternative from *Muntingia calabura* leaves extract. The data were analyzed descriptively including the inhibitory of ethanol absolute extract and ethanol 95% of *M. Calabura* against isolate clinical bacteria by Kirby Bauer method and the type of compound that contains in *M.calabura* leaf by thin layer chromatography utilizing eluen n-hexan- Methanol. Etanol absolute extract *M.calabura* leaf showing the average inhibition zone against *Pseudomonas aeruginosa* 15.67 mm, *Staphylococcus aureus* 19.33 mm and *Escherichia coli* 13 mm. While, The etanol extract 95% showing higher inhibition *Pseudomonas aeruginosa* 19.67 mm, *Staphylococcus aureus* 19.33 mm and *Escherichia coli* 16.67 mm. This inhibitory zone was slightly lower than chlorhexidine gluconate with an average of 20-24 mm against the three bacteria that utilized in the test but belongs to the strongly sensitive category for natural materials according to Mukherjee (1988). From thin layer chromatography profile with eluen n-hexan: methanol found three compounds that were in the range of Rf value 0.4; 0.5 and 0.7. The Conclusion for this study is the bioactive material from etanol 95% extract *M.calabura* leaf can be optimized to the hand sanitizer active compound candidate.

Keywords: *Muntingia calabura leaf*, Antibacterial Activity, Hand Sanitizer.

LATAR BELAKANG

Badan kesehatan dunia (WHO) pada bulan Oktober Tahun 2005 mencanangkan “Clean Care is Safer Care” merupakan gerakan untuk mengurangi kejadian infeksi nosokomial, yaitu suatu infeksi yang didapatkan pasien saat dirawat di fasilitas kesehatan atau rumah sakit. Menurut WHO infeksi nosokomial menduduki urutan tertinggi penyebab kematian pasien yang menjalani rawat inap di fasilitas kesehatan terutama di negara-negara berkembang. Infeksi tersebut dapat ditekan penularannya dengan melakukan hand higien, yaitu mencuci tangan dengan sabun atau menggunakan bahan antiseptic berupa hand sanitiser (WHO Guidelines,2009)

Hand sanitizer adalah bahan pembersih tangan yang dapat membunuh bakteri atau kuman, berbahan dasar alcohol dengan konsentrasi 60-95% efektif membunuh kuman dibandingkan konsentrasi yang lebih rendah atau bahan hand sanitiser yang berbahan dasar non alcohol (Kampf G.2004)

Namun pemakaian bahan untuk hand sanitiser berbahan dasar triclosan belakangan ini menjadi permasalahan baru, The U.S. Food Drug Administration pada penghujung tahun 2016 mengeluarkan maklumat mengenai kewaspadaan penggunaan hand sanitizer yang mengandung triclosan. Stoker dkk 2010 dalam jurnal NCBI menyatakan dalam penelitiannya bahwa triclosan mempengaruhi hormone estrogen yang menyebabkan perubahan pada gambaran histology uteri mencit .(Stoker TE et all, 2010)

Keanekaragaman hayati yang tinggi di Indonesia mempunyai peluang besar untuk dijadikan sumber antibakteri. Salah satunya adalah *Muntingia*

calabura atau biasa disebut kersen adalah tanaman pohon yang berasal dari daerah tropis, tumbuh di Amerika hingga Asia Tenggara. (Mahmood ND,2014) Biasanya banyak ditemukan tumbuh liar di tepi jalan, memiliki ciri daun oval hingga lancet dengan tepian bergerigi. Pohon kersen berbuah sepanjang tahun dengan bentuk bunga kecil berwarna putih, buah berwarna merah berbentuk seperti ceri dan berasa manis (Bayer C,1998)

Di Negara Peru *M.calabura* banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional menyembuhkan peradangan, penurun panas, mengobati asam urat selain sebagai antiseptic, antioksidan, antimikrobia, antidiabetes dan anti tumor (Siddiqua A,2010). Menurut Bintang dan Prabowo dalam Firdiyani (2015) setiap tumbuhan memiliki kumpulan senyawa-senyawa yang dapat dimanfaatkan untuk kehidupan manusia. Salah satunya adalah senyawa bioaktif, senyawa bioaktif adalah senyawa yang terkandung dalam tubuh hewan atau tumbuhan yang memiliki banyak manfaat bagi manusia, diantaranya sebagai sumber antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan anti kanker.

Flavonoid adalah salah satu senyawa yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri dan antiinflamasi. Buhian et all (2016) dalam penelitiannya melalui fitokemikal skrening daun *M.calabura* mengandung senyawa sterol, flavonoid, alkaloid, saponin glikosida dan tannin.

Dalam penelitian ini kemampuan kandungan senyawa antibakteri daun *M.calabura* akan lebih difokuskan sebagai bahan aktif hand sanitiser, mengingat semakin cepat berkembangnya bakteri yang bermutasi menjadi jenis baru dirasa perlu terus

menerus dilakukan eksplorasi senyawa-senyawa antibakteri dari tumbuhan yang secara umum mudah didapatkan dan memiliki perkembangan tidak mengenal musim. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri daun *M.calabura* melalui sensitivitas ekstrak etanol absolut dan etanol 95% terhadap beberapa bakteri isolate klinik RSUDP NTB sebagai sumber alternative bahan aktif hand sanitiser serta profil senyawanya melalui kromatografi lapis tipis.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen, dengan membandingkan dua perlakuan untuk mengamati aktivitas antibakteri daun *M.calabura*, yaitu :

- (EA) ekstrak etanol absolute daun *M.calabura* dosis 10 mg/ml
- (E95) ekstrak etanol 95% daun *M.calabura* dosis 10 mg/ml

Populasi dalam penelitian ini adalah daun tanaman *M.calabura*, sedangkan sampel yang digunakan adalah daun *M.calabura* yang dipetik di daerah Batu Layar Lombok Barat pada Bulan Februari.

Variabel dalam penelitian, variable independent adalah daun *M.calabura* dan variable dependen adalah aktivitas antibakteri

Definisi operasional :

- Daun *Muntingia calabura* berwarna hijau tua hingga muda dengan tepian bergerigi dan berbentuk oval
- Aktivitas antibakteri adalah kemampuan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri

- Hand sanitiser adalah bahan pembersih tangan yang dapat membunuh bakteri atau kuman

Instrumen penelitian :

Alat : incubator, oven, laminar cabinet, blender, neraca digital, cawan petri, beker glas, gelas ukur, lampu UV.

Bahan : daun *M.calabura*, isolate bakteri klinik *S.aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, media Muller Hinton agar, media nutrient agar, plat silica gel 60 F254, n-hexan, methanol, etanol absolute, etanol 95%, aquades steril, kertas saring Whatman.

Cara kerja :

Pembuatan ekstrak maserasi daun M.calabura :

Daun *M.calabura* dibersihkan dari pengotor kemudian dicuci dengan air mengalir dan diiris halus, daun di oven pada suhu 30⁰C hingga kering. Daun *M.calabura* kering diblender dan direndam masing-masing 10 gr dalam pelarut etanol absolute dan 10 gr dalam etanol 95% dengan perbandingan 1 : 10 (w/v) selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Pada hari ke 3 rendaman disaring menggunakan kertas saring, dan hasil filtratnya di uapkan dalam lemari asam hingga didapatkan maserat kering. Maserat diencerkan dengan pelarut DMSO dan dibuat dalam dua sediaan dengan rincian,sebagai berikut:

- (EA) ekstrak etanol absolute daun *M.calabura* dosis 10 mg/ml
- (E95) ekstrak etanol 95% daun *M.calabura* dosis 10 mg/ml

Aktivitas antimikroba daun M.calabura : aktivitas antimikroba daun *M.calabura* di uji dengan teknik difusi Kirby-Bauer (Bauer,Kirby, 1959)

menggunakan sumuran pada media Muler Hinton Agar (MHA) plate. Menggunakan control negative DMSO dan control positif chlorhexidine gluconate (0,5% w/v dalam 70% v/v etanol). Bakteri yang digunakan dalam uji ini adalah bakteri isolate klinik *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Eschericia coli* koleksi Laboratorium Mikrobiologi Instalasi Litbangkes RSUDP NTB. Dilakukan dengan menyemai bakteri isolate klinik pada media MHA yang kemudian dilubangi dengan diameter 6 mm, ke dalam lubang sumuran dimasukkan masing-masing sediaan EA dan E95 dengan tiga kali ulangan. Selanjutnya inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan hasil aktivitas antimikroba berupa sensitivitas ditandai dengan munculnya zona bening disekitar sumuran yang diukur diameternya menggunakan mistar dalam satuan mm, hasilnya dibaca menggunakan kriteria Mukherjee(1998), > 12 mm sensitive kuat, 12 mm sensitif sedang, 4-12 mm intermediet, < 4 mm

resisten. Hasil pengukuran zona hambat kemudian dibandingkan dengan control positif dengan pertimbangan criteria Mukherjee (1988), apabila mempunyai nilai mendekati zona hambat control positif maka ekstrak ethanol daun *M.calabura* layak diajukan sebagai kandidat bahan aktif hand sanitiser.

Profil kromatografi lapis tipis M.calabura : pemeriksaan ini dilakukan untuk mengetahui jumlah senyawa yang terkandung didalam daun *M.calabura*. Dilakukan dengan cara menotol ekstrak daun *M.calabura* pada plat silica gel 60 F254 sebagai fase diam dan N-hexan : methanol sebagai fase gerak. Hasil rambatan pada plat silica dibaca menggunakan sinar UV 254 nm dan dihitung nilai Rf nya..

HASIL PENELITIAN

Tabel dibawah ini menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri yang terkandung di dalam daun *M.calabura* serta profil kromatografi lapis tipis.

Tabel 1. Hasil uji sensitivitas ekstrak etanol 95% *M.calabura* terhadap bakteri isolate klinik dalam 1x24 jam

	S.aureus/mm			P.aeruginosa/mm			E.coli/mm		
	U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3
Ekstrak etanol 95% daun <i>M.calabura</i>	18	20	20	19	20	20	17	17	16
Rata-rata	19.33			19.67			16.67		

Tabel 2. Hasil uji sensitivitas ekstrak etanol absolut *M.calabura* terhadap bakteri isolate klinik dalam 1x24 jam

	<i>S.aureus/</i> mm			<i>P.aeruginosa/</i> mm			<i>E.coli/</i> mm		
	U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3
Ekstrak etanol absolute daun <i>M.calabura</i>	18	20	20	17	15	15	14	14	15
Rata-rata	19.33			15.67			13		

Tabel 3. Hasil uji kromatografi lapis tipis ekstrak etanol 95% daun *M.calabura*

Konsentrasi eluen	Bercak yang di hasilkan	Nilai Rf	Warna pendaran dalam UV 254
n-hexan – methanol 9 : 1	1	0.71	Orange
	2	0.5	Orange
	3	0.42	Orange

PEMBAHASAN

Hasil maserasi pada daun *M.calabura* setiap 10 gr menggunakan etanol 95% selama tiga hari menghasilkan pasta hijau pekat rata-rata seberat 0.96 gr dengan bau khas daun kering, sedangkan ekstrak etanol absolute tiap 10 gr menghasilkan rata-rata pasta seberat 0.98 gr. Maserat tersebut diuji dengan dosis 10 mg/ml menggunakan pelarut DMSO. Kontrol positif dalam penelitian ini adalah Chlorhexidine gluconate 0,5% dalam etanol 70% yang menunjukkan penghambatan sebesar rata-rata 20-25 mm dan kontrol negatif menggunakan DMSO. Hasil uji efektivitas terhadap bakteri isolate klinik menunjukkan bahwa, hasil penghambatan senyawa bioaktif ekstrak *M.calabura* ditemukan paling efektif terhadap *P.aeruginosa* sebesar 19.67 mm, selanjutnya terhadap *S.aureus* 19.33mm dan terkecil terhadap *E.coli* yaitu sebesar 16.67 mm (Tabel 1). Jika mengacu pada standar sensitivitas senyawa bahan alam terhadap bakteri menurut Mukherjee (1988) semua hasil pengujian menunjukkan hasil sensitive kuat karena rata-rata penghambatan terhadap bakteri sebesar >12 mm. Namun jika dibandingkan dengan penghambatan Chlorhexidine gluconate yang menjadi control positif rata-rata memiliki daya hambat sekitar 20-25 mm luas zona hambat *M.calabura* tersebut masih sedikit lebih rendah. Kampf G dan Kramer A. (2004) mengatakan bahwa bahan hand sanitiser yang berbahan dasar non alcohol hanya efektif untuk sebagian kecil kuman atau bakteri dan lebih bersifat menghambat pertumbuhan kuman daripada membunuh. Hal tersebut tidak terjadi pada penelitian ini, daya hambat yang dihasilkan oleh

senyawa bioaktif daun *M.calabura* dapat mempertahankan sensitivitasnya hingga lebih dari 3 hari terhadap tiga bakteri uji.

Arum YP (2012) dalam penelitiannya mengidentifikasi keberadaan senyawa flavonoid berupa auron, flavonol dan flavon dalam daun *M.calabura*. Hal tersebut membuktikan bahwa daun *M.calabura* mengandung senyawa yang mempunyai sifat antibakteri. Dalam penelitian tersebut diketahui bahwa ekstrak etanol 96% daun *M.calabura* efektif menghambat pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa* sebesar 10 mm, *S.aureus* sebesar 10 mm dan *E.coli* 9 mm. Nilai tersebut masih lebih rendah dari hasil penelitian ini yang mencapai rata-rata 19.67 mm untuk *P.aeruginosa*, 19.33 mm untuk *S.aureus* dan 16,67 mm untuk *E.coli*. Dari sisi penggunaan konsentrasi pelarut, dalam penelitian ini konsentrasi yang digunakan lebih rendah yaitu etanol 95% jika dibandingkan dengan konsentrasi dalam penelitian Arum YP (2012) sebesar 96%. Konsentrasi pelarut berkorelasi dengan kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji, semakin pekat pelarut maka daya hambat terhadap bakteri semakin rendah. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel 2 yang menunjukkan bahwa pada uji sensitivitas ekstrak etanol absolute *M.calabura* menghasilkan daya hambat sedikit lebih rendah dibandingkan menggunakan ekstrak etanol 95%, dan jika dibandingkan dengan penelitian Arum YP (2012) terlihat bahwa kemampuan daya hambat tersebut bertingkat, semakin besar konsentrasi pelarut saat ekstraksi semakin kecil daya hambat pertumbuhan terhadap bakteri *S.aureus*, *P.aeruginosa* dan *E.coli* (Tabel 3).

Menurut Alvarez dalam Zakaria (2010) Bahan aktif antimikrobia terutama beberapa jenis golongan flavonoid memiliki komponen seperti rutin dan quercetin yang mampu mengikat protein pada membrane bakteri atau porin sehingga dapat merubah karakter membrane menjadi mudah dimasuki oleh zat bioaktif yang bersifat polar melalui sistem difusi.

Pada pengujian kromatografi lapis tipis ekstrak daun *M.calabura* dengan menggunakan eluen n-hexan- methanol dengan perbandingan 9 : 1, ditemukan tiga bercak yang mempunyai nilai Rf 0.71 ; 0.5 ; 0.42. Pada pengujian KLT ini tidak menggunakan standar baku maupun pereaksi semprot, deteksi hanya dilakukan dengan menggunakan sinar UV 254 nm dan campuran eluen berdasarkan uji coba, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai profil senyawa yang ditemukan pada tiga bercak tersebut, untuk memastikan jenis senyawa dan apakah benar tiga senyawa tersebut yang berperan dalam efektivitas antibakteri daun *M.calabura*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Didalam ekstrak daun *M.calabura* yang diuji kromatografi lapis tipis menggunakan silica gel dan eluen n-hexan-methanol ditemukan tiga bercak yang berpendar orange dibawah UV 254 nm. Ekstrak etanol 95% daun *M.calabura* lebih efektif menghambat pertumbuhan *P.aeruginosa*, *S.aureus* dan *E.coli* dibandingkan dengan ekstrak etanol absolute dengan kisaran daya hambat *P. aeruginosa* 19.67mm, *S.aureus* 19.33 mm dan *E.coli* 16.67 mm.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa zat antibakteri yang terkandung dalam ekstrak etanol 95% daun *M.calabura* dapat di uji lanjut sebagai kandidat bahan aktif hand sanitiser.

Saran

Perlu dilakukan pengulangan pengujian serupa menggunakan bahan daun *M.calabura* dari beberapa daerah untuk bisa mendapatkan jenis-jenis daun *M. calabura* yang memiliki kemampuan aktivitas antibakteri yang maksimal untuk dapat dikembangkan sebagai bahan hand sanitiser.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, E., & Mc Farlane, J. (2004). Community Arum YP, Supartono, Sudarmin.2012. Isolasi dan uji daya antimikroba ekstrak daun kersen (Muntingia calabura). Jurnal MIPA ; 35(2):165-174
- Bauer AW,Perry DM,Kirby WMM.Single disc antibiotic sensitivity testing staphylococci.AMA Arch Intern Med.1959;104:208-216.
- Bayer C, Chase MW, Fay MF.1998. Muntingiaceae, a new family of dicotyledones with malvacean affinities.Taxon:47(1):37-42
- Buhian WP, et all. 2016. Bioactive metabolite profiles and antimicrobial activity of ethanolic extract from Muntingia calabura L leaves and stems. Asian Pac J Trop Biomed;6(8);682-685.
- Firdiyani F, Agustini T.W., Ma`ruf W.F.2015. Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami *Spirulina platensis* segar dengan pelarut yang berbeda. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia,Volume 18 No.1.
- Kampf G, Kramer A.2004. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. Clin Microbiol Rev.Oct;17(4):863-93)

- Mukherjee KL.1988. Medical Laboratory Technology. Vol II. Delhi : Tata MC 15 nomor 1
- Mahmood ND, Nasir NL, Rofiee MS, Tohid SF, Ching SM, The LK, et.al.2014. *Muntingia calabura*: a review of its traditional uses, chemical properties, and pharmacological observation. *Pharm Biol*;52(12): 1598-623
- 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
- Stoker TE et al.2010. Triclosan exposure modulated estrogen-dependent responses in the female wistar rat. *Toxicol Sci* 2010 Sep;117(1) :45-53. doi:10.1093/toxsci/kfq180. Epub 2010 Jun 18. Diakses 25 Januari 2017 09.05)
- Todd EC, Michaels BS, Holah J, Smith D, Greig JD, Bartleson CA.2010. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 10. Alcohol based antiseptics for hand disinfection and a comparison of their effectiveness with soaps. *J Food Prot*; Nov 73(11):2128-40.
- WHO Guidelines,2009 Diakses 25 Januari 2017 10.10.
- Zakaria et al.2010. In vitro antimicrobial activity of *Muntingia calabura* extract and fractions. *African Journal of Microbiology Research*; Vol.4(4),pp.304-308.