

POTENSI EKSTRAK ETANOL BATANG WOLE WOE ASAL KABUPATEN HALMAHERA TENGAH SEBAGAI ANTIBAKTERI MENGGUNAKAN METODE KLT-BIOAUTOGRAFI

(Potential of Ethanol Extract of Wole Woe Stem From Central Halmahera District as Antibacterial Using TLC Bioautography Method)

Fitriana¹, Sitti Amirah², Safriani Rahman², Rusli¹, Ayyub Harly Nurung¹

¹Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

²Laboratorium Biofarmasi dan Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Email: fitriana.fitriana@umi.ac.id

ABSTRACT

Article Info:

Received: 2023-10-16

Review: 2023-10-17

Accepted: 2023-11-27

Available Online: 2023-12-01

Keywords:

Antibacterial; TLC-Bioautography; Wole Woe Plant.

Corresponding Author:

Fitriana

Laboratorium Mikrobiologi

Farmasi

Fakultas Farmasi

Universitas Muslim Indonesia

Makassar

Indonesia

email: fitriana.fitriana@umi.ac.id

The development of natural materials both from plants and from other materials as traditional medicines can be done by taking habits from the community in utilizing natural materials empirically. The wole woe plant is one of the plants that comes from the forest and grows wildly and is empirically used as a traditional medicine by the Weda community in Central Halmahera Regency. This study aims to see the chromatogram of wole woe stem extract and the group of chemical components that have potential as antibacterial using KLT-Bioautography method. The results of the chromatogram of the ethanol extract of wole woe stem, obtained 6 spots and there are 2 spots with *rf* values of 0.65 and 0.09 which have activity against bacteria *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. The results of the identification of chemical components using specific reagents, obtained chemical groups of anthraquinones, flavonoids, phenolics and alkaloids have potential as antibacterial, so that the ethanol extract of wole woe stem has potential as antibacterial.



Copyright © 2020 Journal As-Syifaa Farmasi by Faculty of Pharmacy, Muslim University. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

Published by:

Fakultas Farmasi

Universitas Muslim Indonesia

Address:

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI) Makassar, Sulawesi Selatan.

Email:

jurnal.farmasi@umi.ac.id

ABSTRAK

Pengembangan bahan alam baik dari tumbuhan maupun dari bahan lainnya sebagai obat tradisional dapat dilakukan dengan mengambil kebiasaan dari masyarakat dalam memanfaatkan bahan alam secara empiris. Tumbuhan wole woe merupakan salah satu tumbuhan yang berasal dari hutan dan tumbuh secara liar dan secara empiris digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Weda di Kabupaten Halmahera Tengah. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kromatogram dari ekstrak batang wole woe dan golongan komponen kimia yang memiliki potensi sebagai antibakteri dengan menggunakan metode KLT-Bioautografi. Hasil kromatogram dari ekstrak etanol batang wole woe, diperoleh 6 bercak dan yang terdapat 2 bercak dengan nilai R_f 0,65 dan 0,09 yang memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil identifikasi komponen kimia dengan menggunakan pereaksi spesifik, diperoleh golongan kimia antrakuinon, flavonoid, fenolik dan alkaloid memiliki potensi sebagai antibakteri, sehingga ekstrak etanol batang wole woe memiliki potensi sebagai antibakteri.

Kata kunci: Antibakteri; KLT-Bioautografi; Tumbuhan Wole Woe.

PENDAHULUAN

Pengembangan bahan alam baik dari tumbuhan maupun dari bahan lainnya sebagai obat tradisional dapat dilakukan dengan mengambil kebiasaan dari masyarakat dalam memanfaatkan bahan alam secara empiris¹. Masyarakat di Indonesia memiliki kebiasaan menggunakan obat tradisional dalam mengobati berbagai penyakit. Obat tradisional adalah bahan alam atau ramuan bahan alam yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan galenic atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan secara turun temurun².

Tumbuhan wole woe merupakan salah satu tumbuhan yang berasal dari hutan dan tumbuh secara liar dan secara empiris digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Weda di Kabupaten Halmahera Tengah. Masyarakat setempat menggunakan bagian batang dengan cara merebus bagian batang yang sudah dirajang kemudian diminum untuk mengobati berbagai penyakit. Masyarakat setempat meyakini batang wole woe dapat mengobati atau menyembuhkan

penyakit seperti antikanker payudara, kista, keputihan, diabetes melitus, luka, disentri, kolesterol dan juga asam urat. Selain itu digunakan juga untuk pemeliharaan Kesehatan³.

Menurut penelitian dari Rahman, S, dkk (2020), ekstrak etanol batang wole woe memiliki efektifitas dalam menyembuhkan luka bakar derajat 2 yang diujikan pada hewan coba tikus. Berdasarkan hasil persen penurunan luka, konsentrasi dalam menyembuhkan luka bakar adalah konsentrasi % % (99,75 %) dengan lama penyembuhan luka pada tikus selama 21 hari. Pada penelitian ini telah dilakukan uji skrining secara fitokimia, mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, teroid, terpenoid dan tanin⁴. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Fitriana, dkk (2022), ekstrak etanol batang wole woe memberikan aktivitas pada konsentrasi 2,5 %, 5 % dan 10 % terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*³.

Berdasarkan uraian diatas, tumbuhan wole woe memiliki khasiat dalam banyak

pengobatan, namun penggunaannya sebagai antibakteri secara ilmiah masih kurang, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap tumbuhan wole woe dalam bentuk ekstrak dengan melakukan pencarian senyawa kimia yang memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen dengan menggunakan metode KLT-Bioautografi.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunsen, cawan petri, cawan penguap, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, inkubator (memmert), jarum ose, kapas, kertas label, korek api, *Laminary Air Flow*, lampu UV 254 nm dan 366 nm, lemari pendingin, autoklaf (ALP), oven (memmert), Penampak bercak, spektrofotometri UV-VIS (apll), tabung reaksi, timbangan analitik (ohaus). Bahan yang digunakan adalah aquadest, biakan bakteri uji *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, dimetil sulfoksida (DMSO), etanol 70 %, larutan NaCl fisiologis 0,9%, medium NA (Nutrien Agar), pelarut etil asetat, kloroform, n-heksan, metanol, sampel ekstrak etanol batang wole woe, H₂SO₄, Dragendroff-HCl, FeCl₃, AlCl₃, pipa kapiler, lempeng KLT.

Penyiapan Sampel

Sampel penelitian ini adalah ekstrak etanol sampel wole woe yang diperoleh dari penelitian sebelumnya dan berasal dari kabupaten Halmahera Tengah³.

Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Bakteri uji yang

digunakan diremajakan dan dimasukkan dalam tabung reaksi serta diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Bakteri uji hasil peremajaan disuspensikan menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,9% kemudian diukur kekeruhannya menggunakan spektrofotometer hingga diperoleh nilai tingkat kekeruhan 25% T pada panjang gelombang 580 nm⁵.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan dengan KLT dilakukan beberapa kali dengan menggunakan beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda zat warna yang bagus. Bercak pada plat KLT dimonitor dibawah lampu UV 254 dan UV 366 nm⁶.

Pemisahan Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Lempeng KLT diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit sebelum digunakan. Ekstrak etanol batang wole woe ditotolkan pada lempeng KLT, lalu dielusi dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (4:1) dalam *chamber*. Kemudian kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, serta penampakan noda penyemprotan H₂SO₄ 10% dan dihitung nilai Rf-nya⁷.

Pengujian KLT-Bioautografi

Pengujian KLT-Bioautografi menggunakan medium NA (Nutrien Agar) steril dituang ke dalam cawan petri steril, lempeng KLT yang telah dielusi, diletakkan di atas permukaan medium agar yang telah disuspensi dengan bakteri uji dan dibiarkan selama 60 menit. Setelah itu, lempeng tersebut diangkat dan dikeluarkan. Selanjutnya medium tadi diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam

untuk bakteri, kemudian diamati zona yang terbentuk⁶.

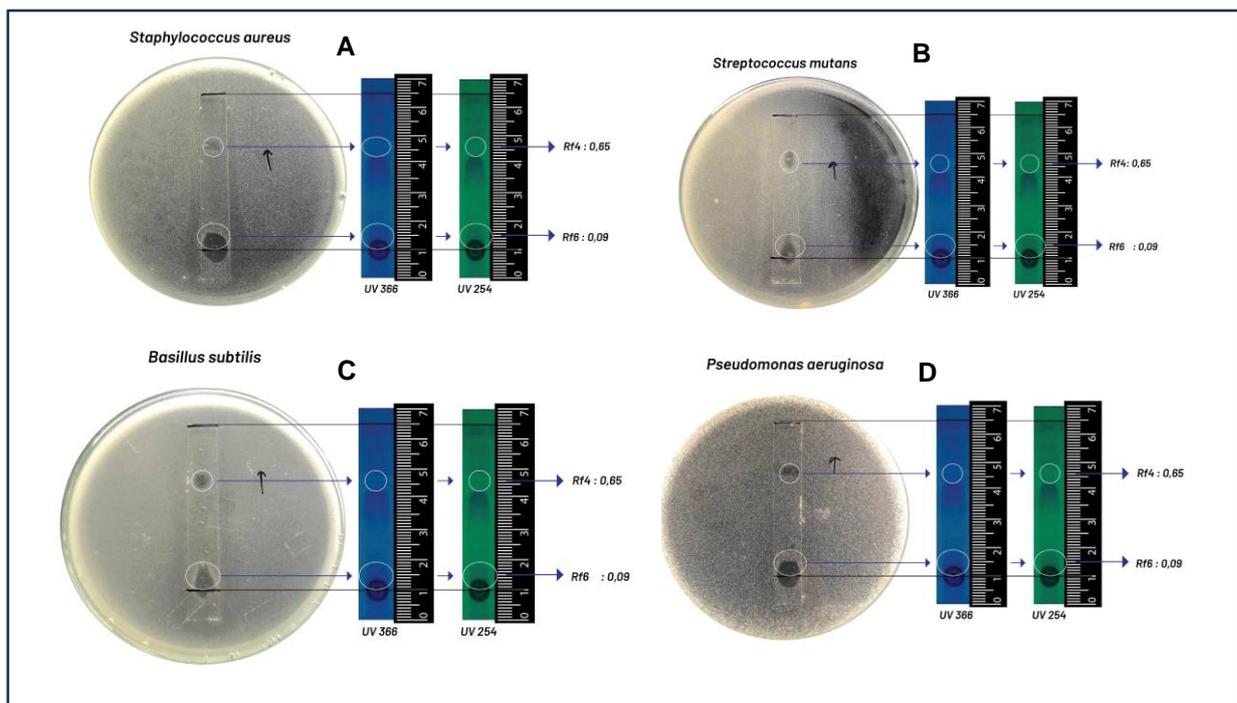
Identifikasi Golongan Komponen Kimia

Ekstrak etanol batang wole woe ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen. Hasil pengelusan kemudian disemprotkan penampak bercak golongan komponen kimia yaitu disemprotkan pereaksi Dragendorf, $AlCl_3$ ⁸, Liberman burchardat⁹, KOH ¹⁰ dan pereaksi $FeCl_3$ 5 %¹¹.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bioautografi adalah metode pendeteksian untuk mengetahui suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba

pada suatu kromatogram, dengan memanfaatkan pengerjaan kromatografi lapis tipis (KLT)¹². Kromatografi lapis tipis merupakan metode identifikasi secara kualitatif dari suatu sampel¹³. Prinsip KLT adalah proses adsorpsi dan partisi¹². Sebelum dilakukan penotolan sampel, fase diam harus diaktifkan terlebih dahulu dalam oven menggunakan suhu $110^\circ C$ selama 15 menit, yang bertujuan untuk meningkatkan daya adsorpsi dari fase diam¹⁴. Pada pengerjaan KLT dilakukan juga proses penjuanan eluen menggunakan kertas saring yang bertujuan untuk mencegah terjadi penguapan pelarut¹⁵.



Gambar 1. Hasil KLT-Bioautografi terhadap bakteri (A): *Staphylococcus aureus*; (B): *Streptococcus mutans*; (C): *Bacillus subtilis*; (D): *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil kromatogram diperoleh dari hasil pengerjaan KLT menggunakan perbandingan eluen yaitu pelarut kloroform : metanol (4 : 1) menghasilkan bercak noda sebanyak 6 bercak dengan nilai rf yaitu rf 1 = 0,92; rf 2 = 0,83; rf 3 = 0,74; rf 4 = 0,65, rf 5 = 0,50 dan rf 6 = 0,09. Pada tahap selanjutnya dilakukan pengujian

aktivitas antibakteri dengan metode KLT bioautografi dengan menggunakan bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan adalah *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dapat menyebabkan alergi pada kulit dan jerawat, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat menyebabkan penyakit bisul, impetigo, selulitis dan bengkak serta

adanya nanah pada luka dikulit, *Staphylococcus epidermidis* dapat menyebabkan penyakit abses/jerawat dan infeksi pada kulit dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat menyebabkan penyakit dermatitis dan folikulitis¹⁶. Pengujian KLT bioautografi didapatkan 2 bercak noda yang aktif yaitu bercak noda ke 4 dengan nilai rf = 0,65 dan bercak noda ke 6 dengan nilai rf = 0,09 yang memberikan zona hambat terhadap bakteri uji. Pada hasil kromatogram terdapat zona hambat pada area terbawah, hal ini dapat disebabkan karena pada proses elusi KLT, eluen yang digunakan tidak lebih polar dari senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri pada ekstrak etanol batang wole woe sehingga senyawa tersebut tidak tertarik oleh eluen yang digunakan¹⁷.

Identifikasi penampak bercak dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat pada kromatogram hasil elusi KLT dengan sampel ekstrak etanol batang wole woe yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dengan melihat perubahan warna bercak noda pada kromatogram¹⁷. Identifikasi komponen kimia dilakukan dengan menggunakan penampak bercak KOH, Meyer, AlCl₃, Dragendrof, Lieberman Bauchardat dan FeCl₃. Berdasarkan hasil identifikasi komponen kimia dengan pereaksi spesifik diperoleh bahwa ekstrak etanol yang memberikan aktivitas terhadap bakteri uji dengan nilai rf 0,65 dan 0,09 memberikan hasil positif mengandung antrakuinon, fenolik, flavonoid dan alkaloid yang berpotensi sebagai antibakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa profil kromatogram dari ekstrak etanol batang wole woe diperoleh 2 bercak aktif dengan nilai rf 0,65

dan nilai rf 0,09 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* serta memiliki komponen kimia yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu golongan antrakuinon, flavonoid, fenolik dan alkaloid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Fakultas Farmasi UMI, atas bantuan dana penelitian mandiri fakultas dapat terlaksana dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rahmawati. Activity of Antioxidant Extract *Scaevola taccada* (Gaertn.) Roxb in Diabetic Rats. *JST Kesehatan*. 2013; 3(4):313-319.
2. Parwata IMO. *Diktat Obat Tradisional*. Bali: Universitas Udayana. 2016
3. Fitriana F, Amirah S, Rahman S, Sukmawati S. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Batang Wole Woe Terhadap Mikroba Patogen Menggunakan Difusi Agar. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2023; 15(1):54–60
4. Rahman S, Kosman R, Amirah S. Uji Efek Epitelisasi Ekstrak Batang Wole Woe Asal Kabupaten Halmahera Tengah Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Tikus. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2022; 14(1):48–56
5. Mustary M, Djide MN, Mahmud I, Hasyim N. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT-Bioautografi Perasan Buah Sawo Manila (*Achras zapota* Linn) Terhadap Bakteri Uji *Salmonella thyposa*. *Jurnal MKMI*. 2011; 7(1):25–27
6. Alen Y, Agresa FL, Yuliandra Y. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2017; 3(2):146–152
7. Fitriana F, Abdullah AA, Achmar AA. Profil Bioautogram Ekstrak Fermentat Isolat Fungi Endofit Dari Daun Galing-Galing (*Cayratia trifolia* L) Sebagai Antibakteri. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2019; 11(1):17–23

8. Mukhriani, Edy Paturusi Aa, Harsal MR. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Korteks Kayu Jati (*Tectona grandis* L.F.) Terhadap Beberapa Bakteri Uji. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*. 2017; 5(1):29–34
9. Herwin, Nurung AH, Ambo NI, Naid T. Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) Sebagai Antibakteri dan Antioksidan. *Journal Microbiology Science*. 2022; 2(1):26–33
10. Yumita, Razak AR, Indriani, Bahri S. Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Kulit Batang Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Kovalen*. 2019; 5(2):191-196,
11. Yuda PESK, Cahyaningsih E, Winariyanthi NPY. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 2017; 3(2):61–70
12. Akhyar. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar Dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa* Griff.) Terhadap *Vibrio harveyi* (Skripsi). Makassar: Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. 2010
13. Efendi YN, Hertiani T. Antimicrobial Potency of Ant-Plant Extract (*Myrmecodia tuberosa* JACK.) against *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. *Majalah Obat Tradisional*. 2015; 18(1):53–58
14. Azizah B, Salamah N. Standarisasi Parameter Non Spesifik dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Pharmaciana*. 2013; 3(1):21–30
15. Hanifah S. Isolasi Dan Elusidasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etil Asetat Daun *Angiopteris palmiformis* (Cav.) C.Chr. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi. 2014
16. Wulaisfan R, Hasnawati. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Warta Farmasi*. 2017; 6(1):90–99
17. Fadila WN, Yuliawati KM, Syafnir L. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dengan Metode Bioautografi KLT Terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*. 2015; :583–590