

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN FRAKSI DAUN *Colocacia esculenta* L. DENGAN METODE KLT-BIOAUTOGRAFI DAN DIFENILPIKRIL HIDRAZIL

Herwin, Muzakkir Baits, Ririn

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia  
Email : [herwinfarmasi@gmail.com](mailto:herwinfarmasi@gmail.com).

### ABSTRACT

*The aim of the research to determine the antibacterial and antioxidant activity of Colocacia esculenta fraction leaves derive from Pare-Pare South Sulawesi in using TLC- Bioautography and diphenilpycril Hydroxil. Screening antibacterial activity test of the Colocacia esculenta fraction leaves exhibited in concentration 1% active on pathogenic bacteria Salmonella thypi. Based on either antibacterial and antioxidant activities by TLC-Bioautography showed that fraction at Rf 0.70 value active on bacteria Salmonella thypi and antioxidant active as well. Identification of active chemical compound showed flavonoid compound using Iodium-KI and antimo (III) clorida as reagent.*

**Key Words** : *Colocacia esculenta* fraction leave, TLC-Bioautography and diphenilpycril hydroxil, antibacterial and antioxidant.

### PENDAHULUAN

Penemuan berbagai senyawa obat baru dari bahan alam semakin memperjelas peran penting metabolit sekunder tumbuhan sebagai sumber bahan baku obat. Kandungan metabolit sekunder ini telah terbukti bekerja sebagai derivat antikanker, antibakteri dan antioksidan alami antara lain golongan alkaloid, tanin, golongan polifenol dan turunannya yang pemanfaatannya sebagai obat alami diyakini mempunyai efek samping yang relatif kecil dibandingkan obat modern. Maka dari

itu senyawa metabolit sekunder tersebut dalam pemanfaatannya sangat diperlukan pengujian aktivitas dan pengujian pra-klinis bahkan secara klinik untuk mengetahui khasiat, dosis dan keamanan senyawa alami sebagai obat antibakteri.

Salah satu tumbuhan yang sangat kurang dimanfaatkan secara ilmiah saat ini adalah daun *Colocacia esculenta* L. dari Pare-Pare Sulawesi Selatan yang dimanfaatkan sebagai obat radang, kulit bernanah, berak darah, bisul, dan luka bakardengan kandungan kimiasaponin, terpen,

tanin, flavonoid, flobatanin, antraquinon, glikosida jantung, dan alkaloid (Bhagyashree, 2011). Senyawa tersebut sangat potensial pemanfaatannya sebagai antibakteri alami untuk penanggulangan infeksi bakteri patogennamun secara ilmiah pemanfaatan daun *Colocacia esculenta* L. sebagai obat antibakteri alami belum terealisasikan.

Penelitian pendahuluan yang telah dilakukan adalah skrining, penelusuran golongan komponen kimia dan aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambatan pada konsentrasi ekstrak etanol dari daun *Colocacia esculenta* L. terhadap bakteri patogen *Salmonella thypi* sangat potensial digunakan sebagai antibakteri alami (Herwin, 2013). Dengan adanya aktivitas dan kandungan kimia ekstrak etanol daun *Colocacia esculenta* L. yang potensial sebagai senyawa bioaktif alami tersebut, sehingga diperlukan fraksinasi daun *Colocacia esculenta* L. dalam penelusuran senyawa bioaktif sebagai antibakteri, antioksidan dan identifikasi golongan senyawa flavonoid sehingga penggunaannya dalam masyarakat lebih dapat dipertanggungjawabkan.

## **METODE PENELITIAN**

### **Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia dengan pengujian aktivitas antibakteri, antioksidan dan identifikasi golongan senyawa aktif fraksi daun *Colocacia esculenta* L. Dan waktu penelitian dilaksanakan pada bulan juli-September 2015.

### **Alat dan bahan yang digunakan**

Alat utama berupa timbangan analitik, rotavapor, sentrifuge, autoklaf, oven, laminar air flow (LAF), inkubator, spektrofotometri UV-visible dan peralatan pendukung lainnya adalah bejana maserasi, botol pengencer, cawan petri, chamber, corong, corong pisah 500 ml, labu ukur 50 ml, lampu spiritus, timbangan kasar.

Bahan utama dalam penelitian ini, fraksi daun *Colocacia esculenta* L. dari Pare-Pare Sulawesi Selatan, aquadest, biakan murni bakteri patogen *Salmonella thypi*, ATCC 2014), kloroform p.a (E.Merck), n-heksan p.a (E.Merk), etil asetat p.a (E.Merk), larutan NaCl fisiologis 0,9%, medium GNA (Glukosa Nutrien Agar), medium NA (Nutrien Agar), medium NB (Nutrien Broth), metanol p.a, reagen semprot (Yodium KI,

*Aktivitas antibakteri dan antioksidan fraksi daun Colocacia esculenta L. dengan metode KLT-Bioautografi dan Difenilpikril hidrazil*

Dragondroff HCL dan Dragondroff Munier), *difenilpikril hidrazil*.

### **Presedur Penelitian**

Daun *Colocacia esculenta* L. yang diperoleh dari Pare-Pare Sulawesi Selatan terlebih dahulu disortasi dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran yang melekat pada sampel sehingga sampel yang dibutuhkan sesuai dengan yang diperlukan. Proses pemisahan kotoran dilakukan dengan air mengalir hingga bersih dan diangin-anginkan diudara bebas dan tidak terkena matahari secara langsung. Sampel yang diperoleh dideterminasi dan standarisasi simplisia untuk dilakukan ekstraksi secara maserasi. Daun *Colocacia esculenta* L. yang telah diolah ditimbang sebanyak 1245 g kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi, selanjutnya ditambahkan metanol sampai terendam seluruh sampel, dan dibiarkan selama 5 hari dengan pengadukan beberapa kali. Setelah itu disaring dan ampasnya direndam kembali dengan cairan penyari yang baru sebanyak 2 kali. Hasil penyarian yang didapat lalu dipisahkan dengan menggunakan rotavapor sampai diperoleh ekstrak etanol kental.

### **Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun *Colocacia esculenta* L. Dengan Metode Kromatografi Cair Vakum**

Ekstrak etanol daun *Colocacia esculenta* L. ditimbang sebanyak 3 gram kemudian difraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum menggunakan eluen n-heksan 2x100 ml, n-heksan : etil asetat (15:1, 10:1, 5:1, 1:1, 1:5, 1:10, 1:15) etil asetat 100 ml, etil asetat : metanol (15:1, 10:1, 5:1, 1:1), metanol 2 x100 ml. Hasil fraksinasi dilakukan aktivitas antibakteri dengan metode KLT-Bioautografi, identifikasi penampak bercak golongan flavanoid (pereaksi benedick, aluminium klorida, Yodium KI, Dragondroff HCL dan Dragondroff Munier dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

### **Skrining Aktivitas Fraksi Daun *Colocacia esculenta* L. Terhadap Bakteri Patogen**

Sebanyak 10 mg fraksi daun *Colocacia esculenta* L. dilarutkan dalam 200 µl DMSO (200 µl = 0,2 ml) kemudian dituang dalam cawan petri yang berisi medium Nutrient Agar (NA) hingga memadat, lalu digoreskan suspensi bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

**Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun *Colocacia esculenta* L. Dengan Metode Difenilpikril Hidrazil (DPPH)**

**a. Pembuatan Larutan DPPH**

Ditimbang DPPH Kristal sebanyak 50 mg, lalu dimasukkan kedalam labu takar 100 ml, tambahkan etanol sampai batas sehingga diperoleh konsentrasi 0.05%. Dari konsentrasi 0.05% tersebut, dipipet 8 ml kemudian ditambahkan 100 ml aquades hingga diperoleh konsentrasi 0.004%.

**b. Pengujian Aktivitas antioksidan**

Kromatogram hasil elusi dari fraksi daun *Colocacia esculenta* L. disemprotkan pereaksi *difenilpikril hidrazil* (DPPH) pada konsentrasi 0.004%. Hasil penyemprotan dengan DPPH diamati bercak aktif yang positif sebagai antioksidan berdasarkan bercak berwarna kuning pada sinar tampak kemudian dihitung nilai Rf-nya.

**Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun *Colocacia esculenta* L. Terhadap Bakteri *Salmonella thypi* Dengan Metode Bioautography-TLC**

Fraksi Daun *Colocacia esculenta* L. ditimbang sebanyak 10 mg lalu dilarutkan dengan kloroform : metanol (1:1). Setelah larut ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis dengan ukuran lempeng untuk masing-masing ekstrak 1 x 6,5 cm dan dielusi dengan menggunakan n-heksan : etil asetat (4 : 1). Setelah terelusi lempeng kromatografi fraksi daun *Colocacia esculenta* L., dikeluarkan dari chamber lalu diangin-anginkan hingga cairan pengelusnya menguap. Kromatogram yang dihasilkan diamati pada sinar UV panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dan dihitung nilai Rf-nya. Hasil kromatogram 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 media diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam (bakteri).

## HASIL PENELITIAN

**Tabel 1.** Hasil Sortasi Daun *Colocacia esculenta* L. Asal Kabupaten Pare-Pare Sulawesi Selatan

No.	Berat Tumbuhan (gram)	Berat Basah (gram)	Berat Kering (gram)	Kadar Air (%)
1.	6250	4650	1245	26.8

**Tabel 2.** Hasil Ekstraksi Simplisia Daun *Colocacia esculenta* L. asal kabupaten Pare-Pare Sulawesi Selatan

No.	Berat Simplisia (gram)	Ekstrak Etanol (gram)
1.	1245	130

**Tabel 3.** Hasil Fraksinasi Ekstrak etanol daun *Colocacia esculenta* L. Dengan Metode Kromatografi Cair Vakum

Fraksi	Bercak	Rf	Penampak Bercak	
			UV 254 nm	UV 366 nm
1	1	0.95	Ungu	-
2	1	0.70	Ungu	Putih
3	1	0.70	Ungu	Putih
4	1	0.52	Ungu	Putih
5	1	0.95	Ungu	-
	2	0.70	Ungu	Putih
	3	0.52	Ungu	Putih
	4	0.38	Ungu	Putih
6	1	0.95	Ungu	-
	2	0.70	Ungu	Putih
	3	0.52	Ungu	-
	4	0.38	Ungu	Putih
7	1	0.95	Ungu	-
	2	0.70	Ungu	Putih
	3	0.52	Ungu	-
8	4	0.38	Ungu	Putih
	1	0.95	Ungu	-
9	1	0.95	Ungu	-
10	1	0.95	Ungu	-
11	1	0.95	Ungu	-
12	1	0.95	Ungu	-
13	1	0.95	Ungu	-
14	1	0.95	Ungu	-
15	1	0.95	Ungu	-

**Tabel 4.** Hasil skrining aktivitas antibakteri fraksi daun *Colocacia esculenta* L. terhadap bakteri patogen *Salmonella typhi*

No.	Sampel	Bakteri Uji
1.	Fraksi Daun <i>Colocacia esculenta</i> L.	<i>Salmonella thypi</i>

**Tabel 5.** Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun *Colocacia esculenta* L. secara KLT-Bioautografi

No.	Rf	Warna Bercak Pada			Bakteri Uji
		UV 254 nm	UV 366 nm	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10%	
1.	0.70	Hijau Muda	Ungu	Putih	<i>Salmonella thypi</i>

**Tabel 6.** Hasil pengujian aktivitas Antioksidan Fraksi Daun *Colocacia esculenta* L. Dengan Metode DPPH

Nilai Rf	Warna Bercak	Pereaksi Kimia
0.70	Kuning	Difenilpikril Hidrazil

**Tabel 7.** Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun *Colocacia esculenta* L. secara KLT-Bioautografi

Rf	Penampak bercak		Bakteri Uji
	UV 254 nm	UV 366 nm	
0.70	Hijau muda	Ungu	<i>Salmonella thypi</i>

## PEMBAHASAN

Daun *Colocacia esculenta* L. yang diperoleh dari Pare-Pare Sulawesi Selatan disortasi dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran yang melekat pada sampel sehingga sampel yang dibutuhkan sesuai dengan yang diperlukan. Proses pemisahan kotoran dilakukan dengan air mengalir hingga bersih dan diangin-anginkan diudara bebas dan tidak terkena matahari secara langsung kemudian ekstraksi secara maserasi.

Berdasarkan hasil sortasi Daun *Colocacia esculenta* L. diperoleh berat tumbuhan talas 6250 gram, 4650 gram berat basah dengan berat kering sebanyak 1245 gram. Simplisia kering sebanyak 1245 g diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% diperoleh 130 g ekstrak etanol kering.

Ekstrak etanol daun *Colocacia esculenta* L. ditimbang sebanyak 3 gram kemudian difraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum menggunakan eluen n-heksan 2x100

*Aktivitas antibakteri dan antioksidan fraksi daun Colocacia esculenta L. dengan metode KLT-Bioautografi dan Difenilpikril hidrazil*

ml, n-heksan : etil asetat (15:1, 10:1, 5:1, 1:1, 1:5, 1:10, 1:15) etil asetat 100 ml, etil asetat : metanol (15:1, 10:1, 5:1, 1:1), metanol 2 x100 ml. Fraksi daun *Colocacia esculenta* L. yang diperoleh dari hasil fraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (4:1) diperoleh nilai Rf 0.70.

Hasil skrining aktivitas antibakteri secara dilusi padat fraksi daun talas (*Colocacia esculenta* L.) terhadap bakteri patogen *Salmonella thypi* diperoleh hasil bahwa ekstrak fraksi daun talas menunjukkan aktivitas terhadap bakteri *Salmonella thypi*. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri dan antioksidan dengan metode KLT-Bioautografi menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (4:1) menunjukkan bahwa fraksi daun *Colocacia esculenta* L. dengan nilai Rf sebesar 0.70 aktif terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan aktif sebagai antioksidan menggunakan pereaksi *difenilpikril hidrazil* serta hasil identifikasi golongan senyawa aktif menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid menggunakan pereaksi Yodium KI, Dragondroff HCL dan Dragondroff Munier.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa :

1. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun *Colocacia esculenta* L. secara KLT-Bioautografi aktif terhadap bakteri *Salmonella thypi* dengan nilai Rf 0.70 dan hasil identifikasi golongan senyawa aktif menunjukkan bahwa fraksi daun *Colocacia esculenta* L. Menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid menggunakan pereaksi kimia Yodium KI, Dragondroff HCL dan Dragondroff Munier.
2. Hasil pengujian aktivitas antioksidan bahwa fraksi aktif daun *Colocacia esculenta* L. aktif sebagai antioksidan pada nilai Rf 0.70.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhagyashree R.P., 2011. Antihepatotoxic Activity Of *Colocasia esculenta* Leaf Juice. International Journal of Advanced Biotechnology and Research 2(2) : 296-304
- Dalimatra, S., 2006. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 4. Puspa Swara: Jakarta, Indonesia. 124p
- DitJen POM, 1979. Farmakope Indonesia. Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 1031p
- DitJen POM, 1980, Farmakope Indonesia. Edisi IV,

*Aktivitas antibakteri dan antioksidan fraksi daun Colocacia esculenta L. dengan metode KLT-Bioautografi dan Difenilpikril hidrazil*

Departemen Kesehatan  
Republik Indonesia, Jakarta.  
1290p

Pengembangan Pertanian  
Komisi Nasional Plasma  
Nutfah. 83p

Eddy, Nabuk, O., 2009. Inhibitive and Adsorption Properties of Ethanol Extract of *Colocasia esculenta* Leaves for The Corrosion of Mild Steel in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. *Int. J. Phys. Sci.*, 4(4). 165-171.

Leong, A.C., Yoshinori, K., Masakuni, T., Hironori I., Hirotsuke, O., dan Hajime, T., 2009. Flavonoid glycosides in the shoot system of Okinawa Taimu (*Colocasia esculenta* S.). *J. Food Chem.* 07(004).166-172.

Herwin, 2013. Skrining dan Penelusuran Golongan Komponen Kimia Aktif Ekstrak Etanol Daun *Colocacia esculenta* L. Terhadap Beberapa Mikroba Uji Secara KLT-Bioautografi, Fakultas Farmasi UMI, Makassar. 35p

Sampurno, 2003. Kebijakan Pengembangan Obat Bahan Alam Indonesia Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII, Universitas Pancasila, Jakarta.83p

Kusumo, S., Hasanah, M., dan Moeljopawiro, S., 2002. Panduan Karakterisasi dan Evaluasi Plasma Nutfah Talas. Bogor : Departemen Pertanian Badan Penelitian dan

Yuliani, S., 2001. Prospek Pengembangan Obat Tradisional Menjadi Obat Fitofarmaka. Jurnal Litbang Pertanian, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor, Indonesia. 121-133