

Antibacterial Activity of Keji Beling (*Strobilanthes crispera*) Ethanol Extract Using TLC – Bioautography

Nurul Fadhillah Junardin¹, Siska Nuryanti¹, Ira Asmaliani²

¹Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

² Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info

Received: 30/07/2023

Available online: 31/03/2024

Corresponding Author:

Nurul Fadhillah Junardin
Department of Microbiology,
Faculty of Pharmacy, Universitas
Muslim Indonesia, Makassar,
South Sulawesi, Indonesia
email: dhillahjuna@gmail.com

ABSTRACT

Antibacterials are compounds that inhibit the growth of bacteria that are harm humans. Keji Beling (Strobilanthes crispera) contains secondary metabolites such as saponins, flavonoids, terpenoids, polyphenols, and potassium. One part used in traditional medicine is the leaves which can treat various diseases. In this study, the ethanol extract of Keji Beling leaves was tested using TLC-bioautography. This study tested the ethanol extract of Keji Beling leaves using TLC-bioautography. The examination begins with a screening for antibacterial activity against several pathogen bacteria, with results that inhibit the growth of Bacillus subtilis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermis, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus mutans, Salmonella typhii, Shyggella dysenteriae, and Vibrio cholera. Test results using the TLC-bioautography method using n-hexane eluent: ethyl acetate (1: 2) found that the spots were active against bacteria Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus Rf value 0.74 and bacteria Bacillus subtilis, Escherichia coli, Salmonella thypii, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus mutans, Shyggella dysenteriae, Vibrio cholera with an Rf value of 0.83. The results of the identification of chemical components showed the presence of positive compounds belonging to the class of flavonoids and anthraquinones. The ethanol extract of keji beling leaves contains a class of flavonoid compounds that have the potential as antibacterial agents with an Rf value of 0.83

Keyword:

Antibacterial, Keji Beling Leaves, TLC-bioautography, Flavonoids



Copyright ©2024 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Antibakteri adalah senyawa atau zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau mematikan bakteri yang menjadi penyebab penyakit infeksi bakteri pada manusia¹. Resistensi antibiotik dapat menyebabkan antibiotik tidak lagi efektif dalam membunuh bakteri yang menyebabkan infeksi, sehingga obat tersebut tidak bekerja

sama sekali pada tubuh². Berbagai macam antibiotik telah banyak ditemukan di dunia medis, tetapi beberapa diantaranya menjadi tidak efektif karena banyaknya bakteri yang telah resisten dan justru menimbulkan efek samping yang sangat merugikan penderita. Dampak negatif akibat penggunaan antibiotik yang tidak rasional, penggunaan antibiotik yang terlalu sering, penggunaan

antibiotik baru yang berlebihan, dan penggunaan antibiotik dalam jangka waktu yang lama ialah timbulnya resistensi mikroorganisme terhadap berbagai antibiotik. Maka dari itu, pencarian alternatif antibakteri yang baru sangat diperlukan terutama yang berasal dari alam³.

Negara Indonesia merupakan salah satu negara penghasil tumbuhan/tanaman obat yang paling banyak. Masyarakat Indonesia memanfaatkan tumbuhan obat secara tradisional dikarenakan efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat yang dibuat secara sintesis. Salah satunya yaitu tanaman keji beling (*Strobilanthes crispata*). Tanaman ini mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, terpenoid, polifenol dan kalium. Kandungan senyawa flavonoid ini berfungsi sebagai antibiotik⁴.

Daun keji beling (*Strobilanthes crispata*) merupakan jenis tanaman obat yang diketahui memiliki banyak manfaat antara lain untuk mengobati batu ginjal, batu empedu, kencing manis (diabetes mellitus), wasir/ambeien (hemoroid), sulit BAB/sembelit (konstipasi), dan BAK kurang lancar⁵.

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya juga memaparkan bahwa tanaman keji beling (*Strobilanthes crispata*) mengandung mineral seperti, kalium, kalsium, besi dan fosfor. Tanaman ini juga mengandung beberapa vitamin, seperti vitamin C, B1 dan B2⁶. Berdasarkan

penelitian yang dipaparkan diatas, penulis tertarik mengangkat topik dengan judul pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthes crispata*) dengan metode KLT bioautografi.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf (*SMIC Model YX-280 B*), bunsen, bejana maserasi, cawan petri (*Normax*), batang pengaduk, corong pisah, chamber, inkubator (*Memert*), gelas kimia 250 ml (*Iwaki Pyrex*), labu Erlenmeyer 250 ml, laminar air flow (LAF), lampu uv 254 nm dan 366 nm, mikropipet, oven, sentrifuge, timbangan analitik (*Chyso*), timbangan kasar, pipa kapiler dan vial⁷.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf (*SMIC Model YX-280 B*), bunsen, bejana maserasi, cawan petri (*Normax*), batang pengaduk, corong pisah, chamber, inkubator (*Memert*), gelas kimia 250 ml (*Iwaki Pyrex*), labu Erlenmeyer 250 ml, laminar air flow (LAW), lampu uv 254 nm dan 366 nm, mikropipet, oven, sentrifuge, timbangan analitik (*Chyso*), timbangan kasar, pipa kapiler dan vial⁷.

Penyiapan dan Pengolahan Sampel

Sampel daun keji beling (*Strobilanthes crispata*) diambil dan dibersihkan dengan air mengalir, lalu dipotong-potong kecil. Setelah dipotong-potong kecil, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa

paparan matahari secara langsung. Kemudian, sampel yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender, lalu sampel yang telah halus ditimbang sebanyak 100 gram serbuk yang akan diekstraksi⁷.

Ekstraksi Sampel

Sampel daun keji beling (*Strobilanthes crispata*) dimasukkan dalam bejana maserasi lalu ditambahkan etanol 96% hingga simplisia tersebut terendam seluruhnya dan didiamkan selama 1x24 jam dengan beberapa kali pengadukan. Setelah itu saring hasil maserasi dengan penyaring, sehingga diperoleh filtrate dan residu. Ulangi proses maserasi sebanyak 3 kali. Kemudian hasil penyaringan yang didapatkan, diuapkan hingga diperoleh ekstrak etanol kental dari daun keji beling (*Strobilanthes crispata*)⁸.

Penyiapan Mikroba Uji

Bakteri uji (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Salmonella typhii*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*) disiapkan dan diambil masing-masing 1 ose. Lalu diinokulasi dengan cara digoreskan pada medium Nutrien Agar (NA) miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam⁹. Bakteri uji hasil peremajaan masing-masing disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% steril dan dimasukkan ke dalam kuvet, lalu diukur transmittan

suspensi biakan itu dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm dengan transmittan 25%. Sebagai blanko digunakan NaCl fisiologis 0,9% steril⁹.

Uji Skrining Bakteri

Ditimbang sebanyak 50 mg ekstrak lalu dilarutkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 0,5 mL. Setelah larut, ekstrak ditambahkan dengan medium *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 9,5 mL dan dituang ke dalam cawan petri kemudian dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Mikroba uji yang telah disuspensikan, masing-masing diambil dengan menggunakan ose bulat lalu digoreskan pada medium yang telah memadat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Hasil inkubasi akan diamati aktivitas antibakteri yang ditandai dengan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada medium¹⁰.

Pemisahan secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak etanol kental daun keji beling (*Strobilanthes crispata*) yang menunjukkan aktivitas paling tinggi diidentifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan eluen yang sesuai. Ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 7x1 cm dengan menggunakan pipa kapiler. Kromatogram yang dihasilkan diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm diberi tanda dan dihitung nilai Rf-nya¹¹.

Pengujian secara KLT-Bioautografi

Hasil identifikasi dengan eluen yang sesuai dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi dengan cara dimasukkan kedalam cawan petri dan dimasukkan medium *Nutrient Agar* sebanyak 10 mL dan ditambahkan suspensi bakteri 0,2 mL lalu dihomogenkan. Lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan di atas permukaan medium agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji kemudian dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu lempeng diangkat dan dikeluarkan, lalu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C kemudian diamati zona hambatan tertentu¹².

Uji identifikasi golongan senyawa kimia

Uji senyawa flavonoid

Untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid, digunakan penampak noda $AlCl_3$ yang menunjukkan terbentuknya noda berwarna kuning coklat dan pada pengamatan dengan sinar tampak akan berwarna biru pada UV 366 nm, yang menandakan adanya kandungan flavonoid¹³.

Uji senyawa steroid

Pada identifikasi steroid, digunakan noda pereaksi Liebermann-Buchard dengan pemanasan pada suhu 105°C selama 5 menit. Kemudian, reaksi positif ditandai dengan adanya noda berwarna merah hijau biru¹⁴.

Uji senyawa tanin

Untuk identifikasi tanin, digunakan noda pereaksi $FeCl_3$ sebanyak 5%. Reaksi

positifnya ditandai dengan terbentuknya noda berwarna hitam¹⁵.

Uji senyawa antrakuinon

Pada identifikasi antrakuinon, dengan menggunakan noda pereaksi KOH sebanyak 10%. Ditandai dengan terbentuknya warna noda kuning, kuning coklat, merah, ungu, hijau dan lembayung sebagai reaksi positifnya¹⁴.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil ekstraksi diperoleh ekstrak kental sebanyak 12,7 gram dan rendamennya 12,7%. Hasil dapat dilihat pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun keji beling (*Strobilanthes crispata*)

No.	Sampel	Bobot
1.	Simplisia	100 gr
2.	Ekstrak kental	12,7 gr
3.	Rendamem	12,7%

Tabel diatas menunjukkan bahwa didapatkan persen rendamen dari ekstrak daun keji beling (*Strobilanthes crispata*) sebesar 12,7%. Rendamen ini banyak mengandung komponen senyawa bioaktif pada ekstrak etanol kental pada daun keji beling (*Strobilanthes crispata*) yang dipengaruhi oleh komponen senyawa metabolit sekunder yang dikandung memiliki tingkat kepolaran terhadap pelarut.

Tujuan uji skrining bakteri dilakukan untuk melihat ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthes crispata*) yang memiliki

Tabel 2. Hasil *skrining* bakteri uji terhadap ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthes crispera*)

Bakteri Uji	Konsentrasi			
	0,2%	0,5%	1%	2%
<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	+	++
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	+	++
<i>Salmonella typhi</i>	-	+	+	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	++
<i>Staphylococcus epidermis</i>	-	+	+	++
<i>Streptococcus mutans</i>	-	+	+	++
<i>Shygella dysenteriae</i>	-	+	+	++
<i>Vibrio cholerae</i>	-	+	+	++

Keterangan : - = Tidak menghambat ; + = menghambat pertumbuhan bakteri uji; ++ = membunuh bakteri uji

potensi sebagai antibakteri dengan mengamati zona hambat yang terbentuk pada berbagai bakteri uji. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 0,2%, 0,5%, 1% dan 2%. Hasil uji skrining dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada tabel diatas terdapat 9 bakteri uji yang diujikan terhadap ekstrak daun keji beling (*Strobilanthes crispera*). Hasil yang diperoleh pada konsentrasi 0,2% untuk ekstrak tidak aktif atau tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Pada konsentrasi 0,5% dan 1%, ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Kemudian pada konsentrasi 2%, ekstrak dapat membunuh pertumbuhan bakteri uji.

Selanjutnya, dilakukan uji KLT-bioautografi dengan metode kontak terhadap ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthes crispera*). Pengujian ini dilakukan untuk mendeteksi suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini digunakan metode

bioautografi kontak, metode ini menjadi pilihan karena mempertimbangkan kesederhanaan dalam pengerjaan, dan hasilnya lebih jelas terlihat¹⁶.

Penggunaan pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda bertujuan untuk memisahkan senyawa yang terdapat dalam ekstrak berdasarkan kepolaritasnya. N-heksan merupakan pelarut yang bersifat nonpolar, sedangkan etil asetat adalah pelarut yang bersifat semi polar yang dapat menarik senyawa polar dan non polar.

Setelah proses bioatografi dilakukan, selanjutnya penentuan nilai Rf dengan cara mengukur perbandingan jarak rambat bercak pada lempeng dengan jarak rambat pada eluen. Berdasarkan uji bioautografi diperoleh hasil sebagaimana pada Tabel 3.

Pada Tabel 3, pada bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan aktivitas antibakteri dengan nilai Rf 0,74. Kemudian pada bakteri uji *Bacillus subtilis*,

Tabel 3. Hasil uji KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun keji beling (*Stobilanthes crispera*)

No	Nilai Rf	Warna pada penampak bercak		Bakteri
		UV 254 mm	UV 366 mm	
1	0,74	Hijau muda	Hijau tua	<i>P. auroginosa</i> , dan <i>S. aureus</i>
2	0,83	Kuning	Coklat	<i>B. subtilis</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. thypii</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. mutans</i> , dan <i>S. dysenteriae</i>

Tabel 4. Hasil uji identifikasi golongan senyawa kimia ekstrak etanol daun keji beling (*Stobilanthes crispera*)

No.	Nilai Rf	Pereaksi	Warna Bercak	Golongan	Ket
1	0,83	AlCl ₃	Biru berpendar	Flavonoid	(+)
2	0,83	Liebermann-Buchard	Merah, hijau, biru	Steroid	(-)
3	0,83	FeCl ₃	Hitam	Tanin	(-)
4	0,83	KOH	Kuning	Antrakuinon	(+)

Escherichia coli, *Salmonella thypii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus mutans*, *Shygella dysenteriae*, *Vibrio cholera* menunjukkan aktivitas antibakteri dengan nilai Rf 0,83. Hal tersebut ditandai dengan adanya zona bening pada permukaan medium tempat bercak, terbentuknya zona bening dikarenakan adanya senyawa yang berdifusi terhadap medium agar yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Nilai Rf digunakan sebagai nilai perbandingan relatif antar sampel. Jika nilai Rf suatu senyawa

Pada tahap akhir dilakukan identifikasi komponen kimia dari ekstrak etanol daun keji beling (*Stobilanthes crispera*). Senyawa kimia yang diujikan yaitu golongan senyawa flavonoid menggunakan pereaksi AlCl₃. Golongan senyawa steroid

dengan pereaksi Liebermann-Buchard, lalu golongan senyawa tanin dengan pereaksi FeCl₃. Kemudian golongan antrakuinon menggunakan pereaksi KOH. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia dapat dilihat pada Tabel 4.

Pada tabel diatas didapatkan ekstrak etanol daun keji beling (*Stobilanthes crispera*), positif mengandung senyawa flavonoid dan antrakuinon dengan menggunakan pereaksi AlCl₃ dan KOH yang disemprotkan pada kromatogram. Hasil positif ditandai dengan penampak bercak berwarna biru berpendar pada flavonoid dan berwarna kuning pada antrakuinon. Flavonoid bekerja dengan cara mengganggu integritas membran sel bakteri, senyawa ini dapat bersifat sebagai koagulator protein. Antrakuinon bekerja dengan menghambat

pertumbuhan bakteri adalah dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan residu asam amino nukleofilik pada protein transmembran pada membran plasma, sehingga mengganggu kehidupan sel bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthes crispus*) menunjukkan potensi yang signifikan sebagai agen antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri uji, termasuk *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan lainnya. Profil kromatogram ekstrak menunjukkan keberadaan bercak aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tertentu dengan nilai Rf yang bervariasi. Identifikasi awal komponen kimia aktif menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan nilai RF tertentu yang berpotensi sebagai antibakteri. Temuan ini memberikan bukti yang kuat untuk potensi pengembangan ekstrak daun keji beling sebagai agen antibakteri dalam aplikasi kedokteran dan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. Mikrobiologi kedokteran edisi XXII. Jakarta: Salemba Medika.2001.
2. Asnita, Rachmat K, Herwin, dan Ayyub H. N. 2020. Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Batang Saseru (*Euphorbia antiquorum* L.) sebagai Penghasil Antibakteri dengan Metode KLT-Bioautografi. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*.2020; 12(2):144 – 149.
3. Pratiwi RH. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *J Pro-Life*. 2017;4(3):418–429
4. Amalia SN, Syafnir L, Purwanti L. Pengaruh letak daun terhadap kadar katekin total pada daun kejabeling (*Strobilanthes Crispus*). [Karya ilmiah]. Bandung: Universitas Islam Bandung.2015.
5. Adibi S, Nordan H, Ningsih SN, Kurnia M, Rohiat S. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak daun *Strobilanthes crispus* Bl (Keji Beling) terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *ALOTROP J Pendidikan dan Ilmu Kim*. 2017;1(2):148–154.
6. Rivai H, Yulianti S, Chandra B. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif dari Ekstrak Heksan, Aseton, Etanol, dan Air dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (WIGHT) Walp.). *J Fak Farm Univ Andalas*. 2019;(March):1–13.
7. Mardiana RN, Handayani N. *Antibacterial activity of the sambiloto leaf extracts (Andrographis paniculata) to Bacillus cereus and Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*. 2016;14(1):19-24.
8. Risdianti, R., Nuryanti, S., & Herwin, H. (2020). 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.)'. 2020.2.23–29.
9. Fitriana, F., Abdullah, A. A., & Achmar, A. A. Profil Bioautogram Ekstrak Fermentat Isolat Fungi Endofit Dari Daun Galing-Galing (*Cayratia trifolia* L) Sebagai Antibakteri'. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*. 2019. 11(1). 17–23.
10. Deponda, R. A., Fitriana, Siska N., dan Herwin. Isolasi Fungi Endofit Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri Secara Metode KLT-Bioautografi'. *As-*

Syifaa Jurnal Farmasi.2019. 11(2). 147-153.

11. Marpaung, M. P., & Wahyuni, R. C. Identifikasi Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca Miers*). *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. 2018. 1(3). 095–098
12. Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung , M., Kurniadi, B. 2008, Buku Ajar Fitokimia, Airlangga University Press, Surabaya.
13. Banu, R. H., Nagarajan, N. TLC and HPTLC fingerprinting of leaf extracts of *Wedelia chinensis (Osbeck) Merrill*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014. 2(6). 29-33.
14. Papatungan, W. A., Lolo, W. A., & Siampa, J. P. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis KLT-Bioautografi Dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora Pierre ex A. Froehner*). *Pharmacon*. 2019. 8(3). 516.
15. Aslah, Aprilia Pratiwi, Widya Astuty Lolo, dan Imam Jayanto. 2019. “Aktivitas Antibakteri Dan Analisis KLT-Bioautografi Dari Fraksi DAUN Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado , 95115
16. Sapara, T. U., Waworuntu, O. dan Juliatri. (2016). Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon, Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(4): 10-17.