



Isolasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Krokot (*Portulaca oleracea* Linn) Menggunakan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus*

Isolation of Antibacterial Ethanolic Extract Compound from Purslane (*Portulaca oleracea* Linn) Roots Using Bacteria Test of *Staphylococcus aureus*

A.Mirza Fauzan Gazali^{1*}, Syariful Anam², Akhmad Khumaidi²

¹Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu, 94118, Indonesia

²Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Tadulako, Palu, 94118, Indonesia

ABSTRACT

Previous studies showed that ethanolic extract of purslane (*Portulaca oleracea* L.) roots in concentrations of 100, 250, 500 and 750 mg/mL had antibacterial activity with inhibition zone diameter of 31, 34, 37 and 40 mm, respectively against *Staphylococcus aureus* (Dhole *et al*, 2011). This current study aimed to isolate and to identify the group of chemical compounds acting as antibacterials from ethanolic extract of purslane roots. The extraction process was started by maceration method in three times replication using ethanol 96%. Purification was conducted in a few stages of partition successively using n-hexane, ethyl acetate, and water. Furthermore the aqueous extract from partition was hydrolyzed using methanol-hydrochloric acid 2N (1:1). The methanol-free residual phase was followed by partition using ethyl acetate of which product (ethyl acetate phase) was eventually treated with Preparative Thin Layer Chromatography in order to isolate the target compounds which was then recrystallized and continued by purification test in thin layer chromatography using multi eluents. The antibacterial activity of isolated compound was examined based on agar diffusion method and TLC bioautography. The identification of its compound group showed positive result in $AlCl_3$ 5% reagent test with results of UV-VIS spectrophotometry at a wavelength of 200-600 nm, there were showed two peaks, in 300-550 nm (Peak I) and in 240-285 nm (Peak II). From these results, it can be presumed that the isolates belonged to flavonoids group. The antibacterial activity examination of the isolates at concentration of 10 mg/mL with loading dose of 200 μ g/20mL resulted inhibition zone diameter of 11.3 \pm 0.81 mm.

Keywords : Ethanolic Extract, Purslane Roots, *Portulaca oleracea* L., Isolation, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRAK

Berdasarkan studi sebelumnya diperoleh bahwa ekstrak etanol akar krokot (*Portulaca oleracea* L.) dengan konsentrasi 100, 250, 500, dan 750 µg/mL memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat sebesar 31, 34, 37, dan 40 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Dhole *et al*, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi golongan senyawa kimia yang berkhasiat sebagai antibakteri dari ekstrak etanol akar krokot tersebut. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi yang diulang sebanyak tiga kali menggunakan pelarut etanol 96%. Pemurnian senyawa dilakukan melalui beberapa tahapan partisi yaitu berturut-turut dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air selanjutnya ekstrak air hasil partisi dihidrolisis menggunakan metanol:HCl 2N (1:1). Fase HCl yang sudah bebas metanol selanjutnya dipartisi dengan etil asetat, dan hasil partisi (fase etil asetat) dilanjutkan pada tahap isolasi senyawa dengan kromatografi lapis tipis preparatif, selanjutnya isolat direkrystalisasi dan diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis multi eluen. Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada ekstrak dan isolat hasil pemurnian dengan menggunakan metode difusi agar dan KLT Bioautografi. Identifikasi golongan senyawa isolat menunjukkan hasil positif dengan menggunakan pereaksi AlCl₃ 5%, dan hasil analisis spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 200-600 nm memperlihatkan 2 puncak pada rentang panjang gelombang 300-550 nm (Puncak I) dan 240-285 nm (Puncak II). Dari hasil tersebut dapat diduga bahwa isolat termasuk dalam golongan flavonoid, sementara pada hasil pengujian aktivitas antibakteri isolat pada konsentrasi 10 mg/mL dengan *loading dose* 200 µg/20 µL menghasilkan diameter zona hambatan sebesar 11,3±0,81 mm.

Kata Kunci : Ekstrak Etanol, Akar Krokot, *Portulaca oleracea* L., Isolasi, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Tumbuhan obat dikenal mengandung berbagai golongan senyawa kimia tertentu sebagai bahan obat yang mempunyai efek fisiologis terhadap organisme lain atau sering disebut sebagai senyawa bioaktif. Telah banyak senyawa aktif asal tumbuhan yang dimanfaatkan secara komersial untuk berbagai kegunaan. Senyawa alam hasil isolasi dari tumbuhan juga digunakan sebagai bahan asal untuk sintesis bahan-bahan biologis aktif dan sebagai senyawa model untuk merancang senyawa baru yang lebih aktif dengan sifat toksik yang lebih rendah. Bahan biologis aktif dari

tumbuhan dapat berkhasiat sebagai antibakteri (Kingham, 1987).

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri (Jawetz *et al*, 2001). Bakteri adalah salah satu agen biologi yang dapat menyebabkan infeksi. Infeksi (*Infectious diseases*) merupakan penyakit dengan tingkat kejadian yang tinggi dan merupakan salah satu penyebab kematian terbesar. Profil data kesehatan Indonesia tahun 2012 melaporkan bahwa penyakit infeksi termasuk dalam 10 besar penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi (WHO, 2014). Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri,

virus, jamur dan protozoa (Gibson, 1996). Salah satu bakteri penyebab infeksi ialah *Staphylococcus aureus*. Infeksi yang ditimbulkan berupa abses setempat (borok dan jerawat), bakterimia, endokarditis, faringitis, pneumonia (Willey, 2008), meningitis, dan empiema (Brooks, 2007).

Salah satu tumbuhan obat yang berkhasiat antibakteri adalah krokot (*Portulaca oleracea* Linn). Secara tradisional, tumbuhan krokot digunakan untuk obat luar dalam pengobatan bisul dan borok yang disebabkan oleh bakteri serta secara oral untuk pengobatan disentri, diare akut, radang akut usus buntu, radang payudara, wasir berdarah, keputihan, gangguan sistem saluran kencing, sakit kuning, cacangan dan sebagai bakterisida (Rahardjo, 2007). Tumbuhan krokot ini mengandung alkaloid, saponin, tannin, glikosida, steroid, dan flavonoid (Dhole *et al*, 2011).

Berdasarkan hasil pengujian Dhole *et al*, (2011) ekstrak etanol akar krokot pada konsentrasi 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, dan 750 µg/mL terhadap bakteri *S. aureus* memberikan zona hambat sebesar 31 mm, 34 mm, 37 mm, dan 40 mm. Pada pengujian tersebut belum diketahui senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antibakteri sehingga perlu dilakukan isolasi senyawa aktif ekstrak

etanol akar krokot yang memiliki aktivitas antibakteri khususnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Akuades, DMSO (Dimetil Sulfoksida) (Merck), etanol 96% (Brataco), *n*-heksana (Brataco), etil asetat (Brataco), metanol (Merck), kloroform (Merck), ammonia (Smart-Lab), *n*-butanol (Merck), pipa kapiler (Nesco), larutan fisiologis NaCl 0,9 % (Widitra), lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck), serbuk silika gel PF₂₅₄ (Merck), pereaksi semprot Liebermann-Burchard, Asam Sulfat (H₂SO₄) 10%, Besi (III) Klorida (FeCl₃) 5%, Anisaldehyd-Asam Sulfat, Alumunium Klorida (AlCl₃) 5%, dan Dragendorff, serta media Nutrient Agar (NA) (Oxoid).

Bahan Uji

Bahan ekstrak: akar krokot (*P. oleracea* Linn.) yang diperoleh dari Kelurahan Lere, Kecamatan Palu Selatan, Kota Palu.

Bakteri: *S. aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah di Kota Palu.

Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Sumber Daya Hayati Sulawesi Universitas Tadulako Palu untuk memastikan

Isolasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Krokot (*Portulaca oleracea* Linn) Menggunakan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* (A.Mirza Fauzan Gazali dkk)

tumbuhan yang digunakan adalah krokot (*P. oleracea* Linn).

Preparasi Sampel

Pengambilan sampel tumbuhan krokot (*P. oleracea* Linn) dilakukan di Kelurahan Lere, Kecamatan Palu Barat, Kota Palu. Sampel tumbuhan Krokot diambil dalam kondisi segar pada pagi hari. Pengolahan sampel meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyerbukan.

Ekstraksi Sampel

Serbuk simplisia akar tumbuhan krokot ditimbang sebanyak 588,7 g lalu direndam dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2.500 mL dalam wadah maserasi. wadah maserasi tersebut ditutup rapat dan disimpan ditempat yang terlindungi dari cahaya matahari selama 3 x 24 jam, dan dilakukan pengadukan tiap 1 x 24 jam. Serbuk simplisia sisa maserasi (residu) tersebut dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali dengan pelarut baru sebanyak 2.500 ml. Untuk memaksimalkan hasil ekstraksi, maserat hasil 3 kali maserasi digabungkan dan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu pemanasan 60°C dengan tekanan penghisapan 175 mbar dan kecepatan perputaran 100 rpm.

Partisi Cair-Cair

Ekstrak etanol akar tumbuhan krokot ditimbang sebanyak 7,3 g dan ditambahkan air sebanyak 100 mL hingga diperoleh suspensi yang homogen. Suspensi dipindahkan ke dalam corong pisah, dan ditambahkan *n*-heksana sebanyak 30 mL. Corong pisah ditutup, dibalik dan dikocok satu arah hingga didapatkan massa yang terdistribusi, corong dibalik dan dibiarkan hingga terjadi pemisahan. Lapisan air dikeluarkan dan lapisan *n*-heksana ditampung, kemudian lapisan air dikocok lagi dengan *n*-heksana sebanyak 2 kali pengulangan. Hasil partisi pelarut *n*-heksana diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana. Sisa lapisan air dipartisi kembali dengan pelarut etil asetat sebanyak 30 mL dengan 3 kali pengulangan. Hasil partisi pelarut etil asetat diuapkan dan diperoleh ekstrak kental etil asetat dan lapisan air yang tersisa di keringkan menggunakan *freeze drying* selama 2 x 24 jam sehingga diperoleh ekstrak kental air.

Pengujian Antibakteri

1. Pembuatan Media NA

Untuk membuat media agar miring sebanyak 1,15 g NA dilarutkan dalam 50 mL akuades, dipanaskan, dan diaduk dengan pengaduk magnet hingga

Isolasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Krokot (*Portulaca oleracea* Linn) Menggunakan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* (A.Mirza Fauzan Gazali dkk)

homogen. Setiap tabung reaksi diisi dengan 5 mL larutan, dan disterilisasi dengan autoklaf. Tabung-tabung dimiringkan, dibiarkan memadat dan diinokulasikan bakteri uji. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Untuk membuat media agar cawan petri sebanyak 7 g NA dilarutkan dalam 250 mL akuades, dipanaskan, dan diaduk sampai larut. Media tersebut disterilkan dengan autoklaf. Media NA didinginkan dan dimasukkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 mL.

2. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji diambil dengan sengkeli (ose) dari media NA miring dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl fisiologis steril. Suspensi yang terbentuk disetarakan dengan larutan standar Mc. Farland no. 1 yang menunjukkan kepadatan jumlah koloni bakteri sebanyak $3,0 \times 10^8$ CFU/mL.

3. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dengan Metode Difusi Agar

100 mg ekstrak etanol, *n*-heksana, etil asetat, dan air akar tumbuhan krokot masing-masing dilarutkan dengan DMSO hingga volume 10 mL. Dipipet 20 μ L larutan uji ekstrak, diteteskan pada kertas pencadang yang

sebelumnya sudah diletakkan dipermukaan media NA yang telah diinokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus*. Media NA diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 x 24 jam dan diamati diameter zona hambat yang terbentuk.

Hidrolisis

Fraksi air yang telah dipekatkan ditimbang 480 mg dilarutkan dengan 600 mL metanol : HCl 2N (1:1) dan dipanaskan pada suhu 60°C selama 1 jam menggunakan penangas air. Campuran dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan dipartisi dengan etil asetat 15 mL sebanyak 6 kali pengulangan.

Pengujian Fraksi Aktif dengan Metode KLT Bioautografi

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak $3,0 \times 10^6$ CFU/mL diinokulasikan ke dalam cawan petri yang telah berisi media NA dan dibiarkan memadat, Lempeng KLT yang telah dielusi dengan eluen kloroform : metanol (3:1) diuapanginkan dan diletakkan di atas permukaan media NA padat. Lempeng dibiarkan berdifusi selama 30 menit sebelum dipindahkan. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambatan yang terbentuk dibandingkan dengan hasil pengamatan KLT pada sinar tampak dan dibawah lampu UV (Djide, 2008).

Isolasi dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Fraksi etil asetat hasil hidrolisis diisolasi dengan metode KLTP menggunakan fase diam silika gel PF₂₅₄ dengan eluen kloroform : metanol (3:1) dan dengan penambahan uap amonia 3 tetes. Pita-pita noda yang terbentuk dari hasil elusi diamati dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Pita yang sama dengan noda yang memberikan efek antibakteri ditandai dan dikeruk.

Rekristalisasi

Pelarut *n*-heksana dipanaskan hingga mencapai titik didihnya, kemudian isolat padat yang akan direkristalisasi dilarutkan dalam pelarut yang telah dipanaskan sebelumnya. Larutan dibiarkan dingin dalam lemari pendingin. Kristal dikumpulkan dengan menggunakan penyaringan vakum.

Pemastian Kemurnian dengan KLT Multi Eluen

Isolat murni yang diperoleh ditotolkan pada lempeng KLT, dielusi menggunakan 4 eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu etil asetat : *n*-butanol (2:1), *n*-heksana : etil asetat : *n*-butanol (2:2:1), *n*-heksana : etil asetat : metanol (5:2:1), dan *n*-heksana : etil asetat (5:2). Hasil elusi diamati menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm. Isolat

diidentifikasi dengan menggunakan berbagai reagen penampak noda.

Pengujian Isolat dengan Metode Difusi Agar

100 mg isolat uji dilarutkan dengan DMSO hingga volume 10 ml. Dipipet 20 µl larutan uji isolat, dan diteteskan pada kertas pencadangan yang sebelumnya sudah diletakkan dipermukaan media NA yang telah diinokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus*. Media NA diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 x 24 jam dan diamati diameter zona hambat yang terbentuk.

Identifikasi dengan Pereaksi Semprot pada Lempeng KLT

Lempeng KLT dibuat persegi panjang dengan jarak elusi 6 cm. Isolat murni ditotolkan pada masing-masing lempeng KLT. Elusi dilakukan menggunakan perbandingan eluen *n*-heksana : kloroform: metanol (2:1:0,5). Lempeng disemprot menggunakan reagen penampak noda seperti Dragendorff, AlCl₃ 5%, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ 10%, Liebermann-Burchard, dan anisaldehyd-asam sulfat.

Analisis Spektrofotometer Uv-Vis

Senyawa murni yang diperoleh dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan pelarut metanol dan dilakukan *scanning* pada panjang

Isolasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Krokot (*Portulaca oleracea* Linn) Menggunakan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* (A.Mirza Fauzan Gazali dkk)

gelombang 200-600 nm. Spektrum yang muncul dibandingkan dengan literatur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak Etanol Akar Tumbuhan Krokot

Hasil proses maserasi simplisia akar tumbuhan krokot menggunakan pelarut etanol 96%, diperoleh ekstrak kental sebanyak 26,49 g dengan hasil rendemen yang diperoleh yaitu 4,49%. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil (Ditjen POM, 1986), sehingga pada ekstrak kental etanol senyawa-senyawa tersebut akan ikut tersari sebesar 4,49%.

Partisi Ekstrak Etanol Akar Tumbuhan Krokot dengan n-Heksana, Etil Asetat dan Air

Hasil partisi cair-cair dari ekstrak kental etanol akar krokot sebanyak 7,3 g diperoleh ekstrak kental n-heksana 4,63 g dengan persen rendemen yaitu 63,42%, ekstrak kental etil asetat 1,33 g dengan persen rendemen 18,22% dan ekstrak air yaitu 1,30 g dengan persen rendemen yaitu 17,8 %. Partisi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dengan tujuan untuk meningkatkan jumlah ekstrak yang terdistribusi pada masing-masing pelarut berdasarkan prinsip koefisien distribusi.

Isolasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Krokot (*Portulaca oleracea* Linn) Menggunakan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* (A.Mirza Fauzan Gazali dkk)

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri didasarkan pada terbentuknya zona hambat. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak air sebagai ekstrak dengan nilai diameter zona hambat yang paling besar ($7,5 \pm 1,38$ mm).

Tabel 1. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak

Sampel (Ekstrak)	Konsentrasi (mg/mL)	Loading Dose ($\mu\text{g}/20 \mu\text{L}$)	Zona Hambatan (mm)			Rata-rata zona hambat (mm \pm SD)
			Replikasi			
			1	2	3	
Etanol			5,2	9,1	6,5	6,9 \pm 1,98
n-Heksana			3,5	4,3	4	3,9 \pm 0,40
Etil Asetat	10	200	5,3	5,5	5,3	5,4 \pm 0,11
Air			6,4	9,1	7,2	7,5 \pm 1,38

Hal ini menunjukkan bahwa komponen senyawa yang beraktivitas sebagai antibakteri cenderung larut dalam pelarut air.

Hidrolisis

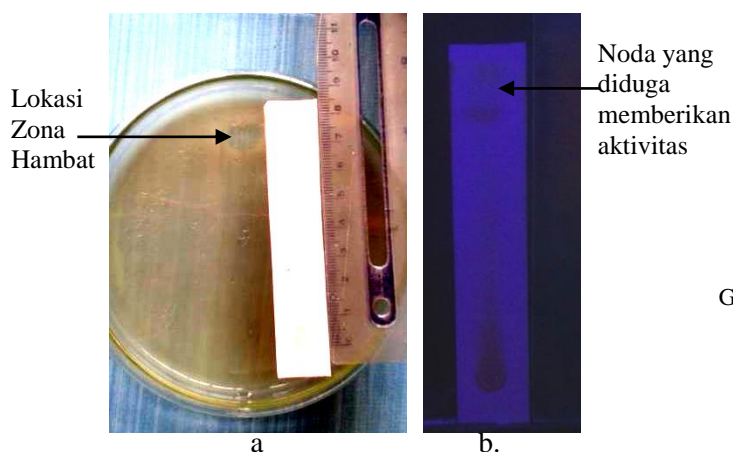
Hidrolisis dilakukan karena pada proses pemurnian dengan menggunakan lempeng KLT (Silika gel) diperoleh pemisahan komponen senyawa yang kurang baik (*Tailing*). Penyebab *Tailing* ialah karena pada fraksi air terdapat banyak senyawa yang terikat gula (glikosida), sehingga memiliki interaksi yang kuat dengan silika gel, oleh karena itu pada fraksi air perlu dilakukan pemisahan glikon dan aglikonnya untuk memperoleh pemurnian senyawa yang baik pada lempeng KLT (Silika gel). Diperoleh jumlah fraksi hasil hidrolisis seperti tabel 2.

Tabel 2. Hasil Hidrolisis ekstrak air akar krokot

Fraksi Hasil Hidrolisis	Bobot Fraksi (mg)	% Rendemen
Air	160	25 %
Etil Asetat	320	75 %
Total	480	100 %

KLT Bioautografi

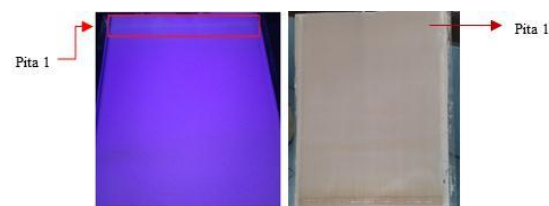
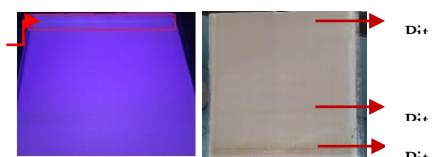
Hasil KLT bioautografi pada fraksi etil asetat hasil hidrolisis menunjukkan aktivitas antibakteri yang terlokalisir pada kromatogram yang ditandai dengan adanya zona hambat pada permukaan media yang terlihat seperti gambar 1 dibawah ini



Gambar 1. Hasil bioautografi dan visualisasi noda; lempeng silika gel 60 F₂₅₄; eluen yang digunakan kloroform:metanol (3:1); Jarak elusi 7 cm
a. Hasil KLT bioautografi
b. Visualisasi dengan lampu UV 366

Isolasi dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif dan Reksristalisasi

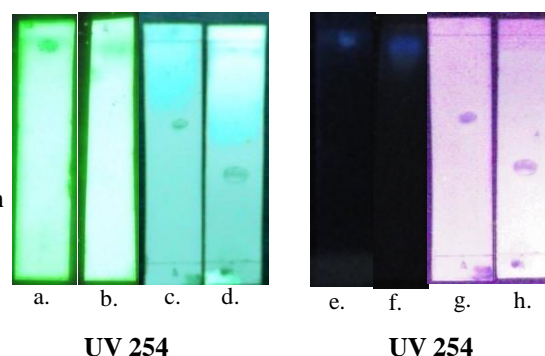
Isolat yang diperoleh dengan bobot 111 mg direkristalisasi menggunakan pelarut *n*-heksan, dan diperoleh 100 mg kristal dengan persen rendemen yaitu 90.1%.



Gambar 2 Hasil isolasi dengan kromatografi lapis tipis preparatif; lempeng KLTP silika gel PF₂₅₄; eluen yang digunakan kloroform : metanol (3:1) dan amonia 3 tetes; jarak elusi 19 cm.

- a. Visualisasi KLTP dengan lampu UV 366.
- b. Visualisasi KLTP sinar tampak

Pemastian Kemurnian dengan KLT Multi Eluen



Gambar 3. Hasil kromatografi lapis tipis preparatif multi eluen lempeng silika gel 60 F₂₅₄; jarak elusi 7 cm
a. eluen etil asetat : *n*-butanol (2:1)
b. eluen *n*-heksana : etil : *n*-butanol (2:2:1)
c. eluen *n*-heksana : etil asetat : metanol (5:2:1)
d. eluen *n*-heksana : etil asetat (5:2)
e. eluen etil asetat : *n*-butanol (2:1)
f. eluen *n*-heksana : etil asetat: *n*-butanol (2:2:1)
g. eluen *n*-heksana : etil asetat : metanol (5:2:1)
h. eluen *n*-heksana : etil asetat (5:2)

Dari gambar tersebut memperlihatkan bahwa masing-masing lempeng KLT setelah dielusi dengan 4 perbandingan eluen dengan kopolaran yang berbeda, noda yang dihasilkan terlihat telah tunggal. Hal ini menandakan bahwa isolat telah murni. Pada hakekatnya penggunaan metode ini yaitu untuk

melihat dan menegaskan apakah isolat yang diperoleh telah tunggal atau belum.

Uji Aktivitas Antibakteri Isolat

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan konsentrasi yang sama yaitu 10 mg/ml dengan *loading dose* 200 µg/20µL, diperoleh nilai diameter zona hambat pada pita I ialah 11,3±0,81 mm dan pita IV ialah 1,4±0,32 mm, sedangkan pada pita II dan III tidak mempunyai aktivitas antibakteri (tabel 3).

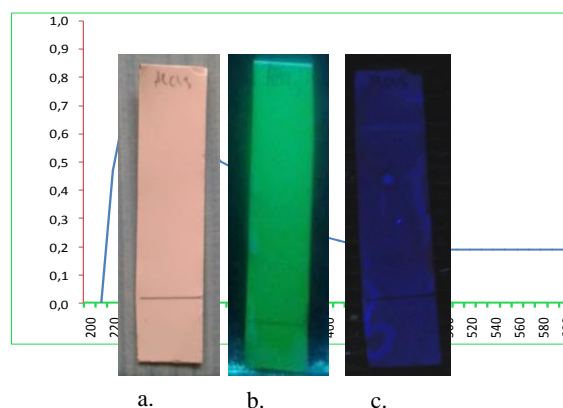
Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri isolat

Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	Loading Dose (µg/20µL)	Zona hambat (mm)			Rata-Rata (mm±SD)
			Replikasi			
			1	2	3	
Isolat 1	10	200	11,3	10,7	12,3	11,3±0,81
Isolat 2			0	0	0	0
Isolat 3			0	0	0	0
Isolat 4			1,8	1,2	1,3	1,4±0,32

Hal ini sesuai dengan profil KLT bioautografi sebelumnya. Pita I merupakan senyawa yang dominan memberikan aktivitas antibakteri dengan nilai diameter zona hambat sebesar 11,3±0,81 mm.

Identifikasi dengan Pereaksi Semprot pada Lempeng KLT

Indikasi mengenai golongan senyawa yang bertanggung jawab memberikan aktivitas antibakteri ialah senyawa flavonoid. Hal ini dikarenakan pada lempeng yang disemprotkan dengan pereaksi AlCl₃ 5%, noda pada sinar UV 254 nm tidak berfluoresensi sedangkan pada sinar UV 366 nm noda berfluoresensi biru (Merck, 1980) seperti pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil identifikasi golongan kimia senyawa flavonoid; lempeng silika gel 60 F₂₅₄; eluen *n*-heksana:kloroform:metanol (2:1:0.5); jarak elusi 6 cm; disemprot pereaksi AlCl₃ 1%.

- Visualisasi sinar tampak
- Visualisasi dengan lampu UV 254
- Visualisasi pada lampu UV 366

Hal ini dipertegas dengan pengamatan pada lempeng yang telah disemprotkan dengan pereaksi penampak noda lainnya tidak memberikan hasil yang positif berdasarkan Waksmundzka-Hajnos *et al* (2008), Glensk (2005) dan Merck (1980). Berdasarkan hal itu dapat diduga bahwa golongan senyawanya ialah flavonoid.

Analisis Spektrofotometri UV-Vis

Data spektrofotometri UV-Vis dapat dilihat pada gambar 5. Isolat aktif dilakukan *scanning* pada panjang gelombang 200-600 nm memperlihatkan 2 puncak yaitu 250 nm (Puncak I) dan 330 nm (Puncak II). Spektrum memperlihatkan 2 puncak pada rentang panjang gelombang 240-285 nm (puncak II) dan 300-550 nm (Puncak I).

Gambar 5. Spektrum Isolat; pelarut metanol

Isolasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Krokot (*Portulaca oleracea* Linn) Menggunakan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* (A.Mirza Fauzan Gazali dkk)

Merujuk pada (Markham, 1988) bahwa puncak-puncak tersebut memperlihatkan puncak-puncak yang khas dari golongan senyawa flavonoid, sehingga menguatkan pernyataan bahwa senyawa yang diduga bertanggung jawab memberikan aktivitas antibakteri dalam akar krokot adalah golongan senyawa flavonoid.

Dari semua parameter yang telah dilakukan, dapat diduga bahwa senyawa golongan flavonoid merupakan senyawa dominan yang berkontribusi sebagai antibakteri dengan diameter zona hambatan sebesar $11,3 \pm 0,81$ mm (*loading dose* 200 μ g/20 μ L).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Prof. Dr. Ramadanil Pitopang, M.Si. dan Sahlan, S.Si. yang telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dilakukan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks, G.F., Butel, J.S., and Morse, 2007, *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg Edisi 23*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Dhole, JA., Dhole, NA., Lone, KD., and Bodke., 2011, *Preliminary Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Some Weeds Collected from Marathwada Region*, Journal of Research in Biology, Vol.1 : 19-23.
- Ditjen POM, 1986, *Sediaan Galenik*, Jilid II, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Djide, N., dan Sartini, 2008, *Analisis Mikrobiologi Farmasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin., Makassar.
- Gibson, J. M., 1996, *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk Perawat*, EGC, Jakarta.
- Gleñsk, M., Wlodarczyk, M., Radom, M., and Cisowski, W., 2005, *TLC as a rapid and convenient method for saponin investigation*, Journal Planar Chromatography – Modern TLC, Vol. 18: 167-170.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg E. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 22*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Kinghorn, D., 1987, *Biologically Active Compounds From Plants With Reputed Medicinal And Sweetening Properties*, Journal of Natural Products, Vol.50 : 1009-1024.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung.
- Merck, 1980, *Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography*, E, Merck Darmstadt, Germany.
- Rahardjo, M., 2007, *Krokot (Portulaca oleracea) gulma berkhasiat obat mengandung omega 3*, Warta Penelitian dan Pengembangan. Vol.1 : 1-4.
- Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J., Kowalika, T., 2008, *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*, CRC Press, London.

Isolasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Krokot (*Portulaca oleracea* Linn) Menggunakan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* (*A.Mirza Fauzan Gazali dkk*)

WHO, 2014, *Indonesia : Health Profile*,
WHO Technical Report Series.

Willey, J.M., L.M. Sherwood, & C.J.
Woolverton., 2008, *Prescott,
Harley, and Klein's Microbiology*,
Seventh Edition, The McGraw-Hill
Companies, Inc, New York.