



**ANALISIS KLT BIOAUTOGRAFI EKSTRAK KULIT BATANG TANAMAN KAYU JAWA
(*Lannea coromandelica*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Shigella
dysenteriae***

**[TLC Bioautography Analysis of Extract Javanese Wood Stem Bark (*Lannea
coromandelica*) to *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae* Bacteria]**

Yumita¹, Abd. Rahman Razak^{1*}, Indriani¹, Syaiful Bahri¹

¹⁾ Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu
Jl. Soekarno Hatta Km.9, Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Telp. 0451- 422611

*)Corresponding author: arrazak@gmail.com

Diterima 2 Mei 2019, Disetujui 22 Juni 2019

ABSTRACT

Java wood plants (*Lannea coromandelica*) is a traditional medicinal plant which is still often used by people to treat internal and external wounds. The study aims to determine the effect of solvent polarity in Javanese stem bark extract on *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*, and to identify the compound groups which had an antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae* with KLT-Bioautography analysis. The results show that the n-hexane extract of Javanese bark is not showing an antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*, whereas the ethyl acetate extract and methanol of Javanese bark show an antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*. The results of the TLC-Bioautography test show negative results for *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae*.

Keywords: *Lannea coromandelica*, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, KLT-Bioautografi

ABSTRAK

Tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica*) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang masih sering digunakan masyarakat untuk mengobati luka dalam maupun luar. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh kepolaran pelarut ekstrak kulit batang kayu jawa terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* dan mengetahui golongan senyawa apa saja yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* dengan analisis KLT-Bioautografi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan kulit batang kayu jawa yang tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* sedangkan ekstrak etil asetat dan metanol kulit batang kayu jawa mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. Hasil uji KLT-Bioautografi tidak menunjukkan hasil yang positif terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*.

Kata kunci: *Lannea coromandelica*, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, KLT-Bioautografi.

LATAR BELAKANG

Tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica*) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang masih sering digunakan masyarakat karena memiliki berbagai khasiat antara lain digunakan untuk mengobati luka dalam maupun luar seperti diare, mual dan muntah (Rahayu *et al.*, 2006). Berdasarkan skrining fitokimia, kulit batang tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica*) dilaporkan mengandung senyawa golongan karbohidrat, steroid, alkaloid, terpenoid, saponin, tannin, dan flavonoid (Manik *et al.*, 2013).

Beberapa pengujian pada tanaman ini di sudah dilakukan salah satunya uji antibakteri menggunakan ekstrak etanol. Hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan aktivitas pada konsentrasi 500 ppm dengan diameter zona hambat 7.1 mm. Bakteri *Escherichia coli* menunjukkan aktivitas pada konsentrasi 500 ppm, 250 ppm dan 125 ppm dengan diameter zona hambat berturut-turut 8.5 mm, 7.8 mm, dan 7.0 mm. Bakteri *Helicobacter pylori* menunjukkan aktivitas pada konsentrasi 500 ppm dan 250 ppm dengan diameter zona hambat 8.2 mm dan 7.3 mm. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan aktivitas pada konsentrasi 500 ppm dan 250 ppm dengan diameter zona hambat 8.5 mm dan 6.8 mm (Rahmadani, 2015). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya bahwa, fraksi n-heksan, diklorometana,

dan etil asetat kulit batang dan daun tanaman kayu jawa memiliki aktivitas antimikroba dan trombolitik (Manik *et al.*, 2013), selain itu ekstrak metanol kulit batang kayu jawa memiliki aktivitas antidiare yang disebabkan mikroorganisme patogen (Rajib *et al.*, 2013).

Meskipun beberapa penelitian telah melaporkan golongan senyawa dalam kayu, namun demikian belum diketahui bagaimana distribusi dan prospektifitas senyawa yang terdapat dalam kulit batang kayu jawa. Oleh karena itu diperlukan pengujian yang menghasilkan data lebih akurat melalui analisis KLT-Bioautografi ekstrak kulit batang tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan adalah kulit kayu jawa, n-heksan, etil asetat, metanol, kloroform, aquadest, NaCl fisiologis, media Natrium agar (NA), spiritus, DMSO, kloromfenikol, pereaksi penyemprot, aluminium foil, plat KLT, kertas saring dan tisu.

Alat-alat yang digunakan meliputi neraca analitik, lumpang, alu, ayakan 60 mesh, corong Buchner, *vacuum rotary evaporator*, jangka sorong, botol semprot, sendok zat, pipet tetes, oven, autoklaf (Hirayama), incubator (POL-EKO Aparatura), ose, lampu bunsen,

seperangkat alat KLT, lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm, *Laminar Air Flow* (Esco Class II BSC).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Kulit batang kayu jawa dikeringkan, dipotong-potong kecil dan dihaluskan. Kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh untuk memperoleh serbuk kulit kayu jawa. Serbuk kulit kayu jawa sebanyak 100 gram direndam dalam pelarut N-heksan sebanyak 1000 mL selama 3 x 24 jam sesekali diaduk. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh disaring menggunakan corong *Buchner* dan diuapkan pelarutnya menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada pelarut etil asetat dan metanol.

Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumur Difusi (Darmawati, 2009)

Alat-alat kaca yang digunakan dicuci bersih dan dibungkus kertas dimasukkan dalam oven pada suhu 175°C selama 90-120 menit (pemanasan kering). Alat yang telah disterilkan dapat langsung dipakai atau disimpan dalam keadaan tertutup rapat. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumur. Media Nutrien Agar (NA) sebanyak 25 ml dicampurkan dengan 500 µL suspensi bakteri uji sesuai perlakuan (*Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*), kemudian dihomogenkan

lalu dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan sampai memadat. Selanjutnya dibuat 3 sumur yang berdiameter ±6 mm menggunakan alat pelubang. Pada masing-masing lubang/sumur diisi dengan control negatif, control positif berupa kloromfenikol, ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol, setiap sumur diisi ekstrak dan control sebanyak 100 µL. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pengujian KLT-Bioautografi (Rozalia, 2013).

Uji KLT bioautografi dilakukan untuk mendeteksi senyawa aktif yang mempunyai aktifitas sebagai antibakteri. Pada plat KLT ditotolkan ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat dan ekstrak methanol. Kemudian dilusi dalam bejana dengan fase gerak berbagai sistem campuran eluen. Setelah itu Plat KLT hasil dilusi ditempelkan pada media NA (*Natrium agar*) yang telah diinokulasi dengan 1000 µl bakteri. Kemudian plat KLT didiamkan selama 30 menit, lalu plat KLT diangkat. Setelah itu amati jika ada bercak pada kromatogram yang ditandai dengan adanya zona jernih yang tidak ditumbuhi mikroba. selanjutnya noda yang membentuk zona hambat pada lempeng KLT disemprot dengan pereaksi semprot untuk menentukan jenis senyawa yang menghambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Hasil ekstrak pekat yang diperoleh pada simplisia kayu jawa untuk ekstrak N-heksan sebanyak 1,20 gram, ekstrak etil asetat sebanyak 4,87 gram, dan ekstrak metanol sebanyak 27,57 gram. Rendeman yang diperoleh untuk ekstrak n-heksan sebanyak 1,20%, etil asetat

sebanyak 4,87%, dan metanol sebanyak 27,57%.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji ekstrak N-heksan, etil asetat, dan metanol kulit batang kayu jawa terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* dilakukan dengan difusi agar.

Tabel 1. Hasil diameter zona hambat ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol

| Ulangan | Diameter zona hambat (mm) | | | | | |
|-----------|------------------------------|-------------|---------|-----------------------------|-------------|---------|
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | | | <i>Shigella dysenteriae</i> | | |
| | n-heksan | Etil asetat | Metanol | n-heksan | Etil asetat | Metanol |
| I | 0 | 12.25 | 9.03 | 0 | 12.25 | 9.03 |
| II | 0 | 12.75 | 12.13 | 0 | 10.15 | 10.35 |
| III | 0 | 14.33 | 12.85 | 0 | 11.75 | 11.03 |
| Rata-rata | 0 | 13.11 | 11.34 | 0 | 11.38 | 10.14 |

Berdasarkan hasil penelitian diatas dapat diketahui bahwa ekstrak n-heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri hal ini ditandai dengan tidak adanya zona bening pada ekstrak tersebut. Ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* yang ditandai dengan adanya zona bening. Hal ini sesuai dengan Parekh *et al.* (2005) yang menemukan bahwa, aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh polaritas senyawa yang diekstraksi oleh masing-masing pelarut.

Menurut Davis dan Stout (1971), berdasarkan zona bening yang terbentuk daya hambat dikelompokkan menjadi 4

kelompok yaitu sangat kuat bila zona hambat >20 mm, kuat 10-20 mm, sedang 5-10 mm dan lemah <5 mm. Berdasarkan literatur diatas maka senyawa antibakteri dalam ekstrak etil asetat dan metanol termasuk kelompok antibakteri dengan daya hambat kuat terhadap kedua bakteri uji.

Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan senyawa ekstrak etil asetat kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*) secara KLT menggunakan campuran eluen n-heksan : etil asetat (7:3), dan pemisahan senyawa ekstrak metanol kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*) secara KLT menggunakan campuran eluen kloroform :

metanol (8:2) dari hasil penotolan kemudian dilihat bercaknya dengan menggunakan lampu UV_{254 nm}, lampu UV_{366 nm}, penampak bercak FeCl₃, H₂SO₄ dan Dragendroff.

Pada penyemprotan ekstrak etil asetat dengan H₂SO₄ 10% noda pada nomor 2 memberikan warna orange hal ini menunjukkan adanya senyawa saponin. Kemudian dilakukan penyemprotan ekstrak etil asetat dengan FeCl₃ noda nomor 5 dan 6 memberikan warna hitam hal ini menunjukkan adanya kandungan flavonoid hal ini sesuai dengan Nugrahaningtyas (2005) yang menyatakan bila senyawa flavonoid direaksikan dengan pereaksi FeCl₃ akan menghasilkan warna hitam/abu-abu. Selanjutnya penyemprotan ekstrak etil asetat dengan dragendroff noda pada nomor 1 memberikan warna coklat. Hal ini menandakan adanya kandungan golongan senyawa alkaloid hal ini sesuai dengan Wagner (1996) yang menyatakan bahwa senyawa alkaloid setelah direaksikan dengan dragendroff akan berwarna coklat pada sinar tampak.

Penyemprotan ekstrak metanol dengan H₂SO₄ 10% dan dragendroff tidak memberikan warna sama sekali dan penyemprotan ekstrak metanol kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*) yang disemprot dengan FeCl₃ memberikan warna hitam hal ini menandakan adanya kandungan senyawa tanin, hal ini sesuai dengan penelitian lainnya dimana senyawa tanin akan

memberikan warna hitam apabila disemprotkan dengan FeCl₃ (Banu dan Nagarajan, 2014).

Hasil Uji KLT-Bioautografi

Bioautografi adalah suatu metode pendektasian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram hasil kromatografi lapis tipis (KLT).

Hasil KLT-Bioautografi ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol kulit batang kayu jawa tidak memberikan hasil yang positif, hal ini disebabkan karena ekstrak pada lempeng kromatogram yang terlalu sedikit (konsentrasi senyawa yang sedikit) sehingga senyawa aktif dalam ekstrak tidak cukup kuat untuk menghasilkan hambatan.

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat dan metanol kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*) dengan konsentrasi 4% menghasilkan aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat rata-rata yaitu 13,11mm dan 11,34 mm dan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan diameter zona hambat rata-rata yaitu 11,38 mm dan 10,14 mm, sedangkan ekstrak n-heksan kulit batang kayu jawa dengan konsentrasi 4% tidak mempunyai aktivitas antibakteri. Hasil KLT-Bioautografi ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol kulit batang kayu jawa tidak memberikan hasil yang positif

sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Banu, R. H., Nagarajan, N. 2014. TLC and HPTLC fingerprinting of leaf extracts of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merrill). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(6): 29-33.
- Darmawati, S. 2009. Keanekaragaman Genetik *Salmonella Typhi*. *Jurnal Kesehatan*, 2(1) : 28 – 32.
- Davis dan Stout. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Journal Of Microbiology* 22(4).
- Manik, M.A. Wahid, S.M.A. Islam, A. Pal, K.T. Ahmad. 2013. A Comparative Study of the Antioxidant, Antimicrobial and Thrombolytic Activity of the Bark and Leaves of *Lannea coromandelica* (Anacardiaceae). *International Journal of Pharamaceutical Sciences and Research*, 4(7):2609-2614.
- Nugrahaningtyas, K, D., Sabirin, M., Tutik, D, W., 2005, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) *Biofarmasi*, 3 (1): 32-38.
- Parekh, J., Darshana, T., Jadeja, R. and Sumitra, C. 2005. Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity. *Turk J Biol*, 29: 203-210.
- Rahayu, Sunarti, S. Diah, P. Suhardjono. 2006. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Secara Tradisional oleh Masyarakat Lokal di Pulau Wawonii, Sulawesi Tenggara. *Jurnal Biodiversitas*, 7(3).
- Rahmadani, F. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.
- Rajib Majumder, Md. Safkath Ibne Jami, Md. Efte Kharul Alam and Md. Badrul Alam. 2013. Antidiarrheal Activity of *Lannea coromandelica* Linn. Bark Extract. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 8(3):128-134.
- Rozalia, Maria. 2013. Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Ekstrak Etanol Kulit Kayu Akway (*Drymis piperita* Hook. F.) Terhadap *Staphylococcus epidermis* dan *Salmonella thypi*. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.