

DETEKSI ANTIBAKTERI PADA EKSTRAK DAUN MURBEI (*Morus alba*L.) DARI BEBERAPA LOKASI PENGAMBILAN SAMPEL TANAMAN DI SULAWESI SELATAN

Alimuddin Ali¹, Sukriani Kursia², Nadia²

¹Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Makassar

Jln. Daeng Tata Raya, Parangtambung, Makassar 90224

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

Jl. Perintis Kemerdekaan Km 13,7 Daya, Telp 04110583190 Makassar 90242

*email: muddin69@unm.ac.id

Abstract: Antibacterial Detection on Murbei leaves (*Morus alba* L.) from Various Sample Location in South Sulawesi. Mulberry (*Morus alba* L.) is one of the morus genus species known to have secondary metabolite compound that can be used as an antioxidant, antibacterial, antiviral, antidiabetic, antihypertensive, hypolipidemic, fever, flu, cough, antiemetic and gastrointestinal disorders. This research aimed to determine antibacterial activity of mulberry leaves from Soppeng, Gowa, and Enrekang against the bacteria *Escherichia coli*. Mulberry leaves were extracted using ethanol 70 % and ethyl acetate. Antibacterial activity test method was done by using agar diffusion method and TLC bioautography. The results showed that mulberry leaf extract from Soppeng, Gowa and Enrekang had antibacterial activity potential to *Escherichia coli* bacteria and the one which had good antibacterial activity was ethanol extract from Soppeng on concentration of 10% with diameter 9,89 mm on its inhibition zone. The test result of TLC bioautography test on acetate ethyl extracts showed that there was antibacterial activity seen from the stain spots, Soppeng 5 spots, Gowa 6 spots, and Enrekang 6 spots while the ethanol extract did not show any antibacterial activity against *Escherichia coli*.

Abstrak: Deteksi Antibakteri pada Ekstrak Daun Murbei (*Morus alba* L.) dari Beberapa Lokasi Pengambilan Sampel Tanaman di Sulawesi Selatan. Murbei (*Morus alba*L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang telah digunakan oleh masyarakat sebagai sumber bahan obat seperti antioksidan, antidiabetes, antihipertensi, hipolipidemik, demam, flu, batuk, antiemetik dan gangguan saluran pencernaan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan potensi aktivitas antibakteri daun murbei dari daerah Soppeng, Gowa dan Enrekang terhadap bakteri *Escherichia coli*. Daun murbei diekstraksi menggunakan larutan penyari etanol 70% dan etil asetat. Metode pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan adalah metode difusi agar dan analisis KLT bioautografi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun murbei asal kab. Soppeng, Gowa dan Enrekang memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan yang memiliki potensi baik sebagai aktivitas antibakteri ialah ekstrak etanol dari daerah soppeng pada konsentrasi 10% dengan diameter zona hambatan yaitu 9,89 mm. Hasil pengujian analisis KLT bioautografi ekstrak etil asetat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan spot noda dari daerah Soppeng 5 noda, Gowa 6 noda dan Enrekang 6 noda sedangkan ekstrak etanol tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: Daun Murbei, Aktivitas Antibakteri, Difusi Agar, dan KLT Bioautografi.

A. PENDAHULUAN

Murbei (*Morus alba*L.) merupakan salah satu jenis tanaman obat yang mengandung flavonoid, fenol, kumarin, tanin, steroid, terpenoid, alkaloid, dan minyak atsiri (Iqbal *et al*, 2012; Enkhamaa *et al*, 2005 Kang *et al*, 2006). Senyawa tersebut memiliki kegunaan sebagai antioksidan, antibakteri, antivirus, antidiabetes, antihipertensi, hipolipidemik, demam, flu, batuk,

antiemetic dan gangguan saluran pencernaan. (El-Beshbishy *et al*, 2006; Iqbal *et al*, 2012; Haryanto, 2009). Senyawa quersetin dan anthosianin yang terdapat dalam ekstrak etanol daun murbei merupakan kelompok glikosida flavonoid. Dimana glikosida flavonoid memiliki senyawa fenol yang berperan sebagai koagulator protein. Gugus fenol dapat berikatan membran

sel bakteri pada ikatan hidrogennya, sehingga menyebabkan perubahan struktur protein. Perubahan struktur protein membran sel dapat mengakibatkan semipermeabilitas membran sel terganggu, sehingga metabolisme seluler terganggu dan mengakibatkan kematian sel (Pelczar & Chan, 2005).

Istilah “*back to nature*” dan potensi keragaman tanaman di Indonesia sangat tinggi dan belum semuanya dimanfaatkan dan juga adanya kesadaran akan tingginya nilai manfaat dengan efek samping yang relatif kecil dari penggunaan obat-obatan tradisional dengan dosis tepat. Oleh karena itu, sangat penting penggalan informasi tentang obat-obatan tradisional melalui tahap-tahap pengujian, penelitian, dan pengembangan secara sistematis agar pemanfaatan dan khasiatnya dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Yuliani, 2001).

Hasil penelitian Hastuti *et al* (2012), menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan dari ekstrak etanol daun dan buah murbei (*Morus alba* L.) dalam beberapa macam konsentrasi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*; konsentrasi ekstrak daun murbei maupun buah murbei yang paling efektif menghambat *Staphylococcus aureus* (85%) dan *Shigella dysenteriae* (95%).

Salah satu khasiat dari tanaman murbei ialah dapat mengobati gangguan saluran pencernaan. Flora normal tubuh yang ada pada saluran pencernaan ialah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif yang apabila konsentrasi bakteri *Escherichia coli* dalam tubuh meningkat maka dapat menyebabkan adanya gangguan saluran pencernaan yaitu diare. Atas dasar tersebut digunakan bakteri *Escherichia coli* untuk melihat potensi aktivitas daya hambat dari daun murbei. Metode yang digunakan untuk melihat adanya potensi daya hambat antibakteri pada daun murbei melalui pengujian aktivitas bakteri yaitu metode difusi yang ditandai dengan adanya zona hambat dan juga dilakukan analisis KLT bioautografi.

B. METODE

1. Sampel Penelitian

Sampel penelitian diambil pada tiga wilayah di Sulawesi Selatan yaitu Tajuncu Kec. Donri-Donri Kabupaten Soppeng, Perkebunan Murbei Kantor Pensuteraan Alam Pakkato

Kabupaten Gowa dan Desa Buntudea Kec. Baroko Kabupaten Enrekang.

2. Penyiapan Sampel

Daun murbei sebanyak 1 kg disortasi basah lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran atau partikel yang menempel pada daun. Selanjutnya dilakukan perajangan lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung selama $\pm$ 8 hari. Simplisia kering yang diperoleh diblender sampai halus.

3. Ekstraksi Sampel

Serbuk simplisia sebanyak 200 gram diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi ke dalam wadah kaca dengan cara dibasahi sedikit demi sedikit terlebih dahulu menggunakan penyari etanol 70%. Setelah terbasahi sempurna dicukupkan dengan sisa penyari etanol lalu wadah di tutup rapat. Metode maserasi dilakukan selama 5 hari dan dilakukan sesekali pengadukan. Cairan yang diperoleh di saring untuk mendapatkan hasil filtratnya, sedangkan ampas diremaserasi kembali menggunakan penyari etanol 70%. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak pekat kemudian di uapkan hingga membentuk ekstrak etanol kental. Selanjutnya untuk ekstrak etilasetat dilakukan dengan tahapan yang sama dengan ekstrak etanol seperti yang dijelaskan sebelumnya. Namun larutan penyari yang digunakan adalah etilasetat.

4. Pengujian Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

Biakan murni bakteri *Escherichia coli* diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium Nutrien broth lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri uji disuspensikan ke dalam larutan NaCl fisiologis 0,9%. Kekeruhan bakteri ditentukan dengan menggunakan standar McFarland 0,5 (Noverita, 2009).

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun murbei dilakukan dengan caramenginokulasikan secara merata biakan bakteri uji pada permukaan medium nutrien agar (NA). Selanjutnya disiapkan paper disk lalu ditotol masing-masing 50 μ L setiap konsentrasi ekstrak yaitu 10%, 15%, 20% dan 25% [b/v], lalu dibiarkan sampai semua pelarut menguap sempurna. Paper disk yang mengandung ekstrak

dipindahkan ke permukaan media NA yang telah diinokulasikan bakteri uji. Untuk kontrol positif digunakan paper disk yang mengandung antibiotik tetrasiklin 30 µg. Seluruh plate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekeliling paperdisk. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

5. Analisis KLT-Bioautografi

Analisis KLT-bioautografi dilakukan dengan cara mengelusi ekstrak aktif dengan fase gerak seperti yang dijelaskan sebelumnya. Selanjutnya lempeng KLT dipaparkan pada sinar UV selama 25 menit untuk mematikan mikroba pada lempeng. Lempeng KLT diletakkan diatas permukaan media cawan NA yang telah diinokulasikan bakteri uji, sehingga terjadi kontak antara spot aktif dengan bakteri. Plate dimasukkan ke dalam lemari pendingin (suhu 4°C) selama 15 supaya senyawa berdifusi sebelum terjadi pertumbuhan bakteri uji. Selanjutnya plate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Spot dinyatakan aktif jika ada zona bening disekitar spot, selanjutnya dikonfirmasi nilai Rf yang aktif.

6. Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak diidentifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan campuran eluen N-Heksan:etil asetat untuk ekstrak etil asetat (7:3) dan eluen Etil asetat metanol untuk ekstrak etanol (6:4). Ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Diamati penampakan noda dibawah lampu UV 254 nm dan 365 nm.

7. Pengujian dengan KLT-Bioautografi

Hasil identifikasi (KLT) dilanjutkan dengan uji KLT Bioautografi dengan cara hasil

lempeng KLT diletakkan di atas permukaan medium NA dalam cawan petri yang telah berisi bakteri. Kemudian diinkubasi selama 1×24 jam pada suhu 37°C. Diamati zona hambat yang terbentuk.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketiga tempat pengambilan sampel tanaman murbei memiliki karakteristik yaitu, daerah dengan kondisi batu kapur di Enrekang, sedangkan tanah berpasir dan tanah hitam masing-masing di daerah Soppeng dan Gowa. Studi menunjukkan bahwa perbedaan tempat tumbuh tersebut dapat memunculkan permasalahan terjadinya variasi kandungan zat kimia berkhasiat (Salisbury & Ross, 1995).

Hal ini ditegaskan juga oleh Colegate dan Molyneux (1993), bahwa perbedaan letak geografis dan perubahan iklim menyebabkan bervariasinya kandungan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan. Hal yang sama juga dinyatakan oleh Garluci, 2010 bahwa lingkungan tempat tumbuh tanaman akan mempengaruhi kualitas dan kuantitas metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman.

Jumlah daun murbei yang diperoleh dari lokasi pengambilan sampel berbeda-beda. Hasil pengeringan sampel didapatkan simplisia kering sebanyak 400 gram (Soppeng), 420 gram (Gowa) dan 300 gram (Enrekang). Simplisia daun murbei diekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan larutan penyari etanol 70% dan etil asetat. Perolehan persen rendamen hasil ekstraksi dengan penyari etanol dan etil asetat terbanyak diperoleh dari ekstrak etanol daerah Soppeng yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perolehan Persen Rendamen Ekstrak Daun Murbei

Asal sampel	Penyari	Berat basah (kg)	Berat kering (gram)	Jumlah penyari (ml)	Berat ekstrak (gram)	Rendamen (%)
Soppeng	Etanol	1	200	1750	30,85	15,4
	Etil asetat		200	2500	28,01	14,0
Gowa	Etanol	1,5	210	1125	27,87	13,2
	Etil asetat		210	1125	19,33	9,2
Enrekang	Etanol	0,9	150	1125	23,07	15,3
	Etil asetat		150	1125	17,15	11,4

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Murbei (*Morus alba*L.)

Ekstrak	Diameter Zona Hambat (mm)						
	Replikasi	10%	15%	20%	25%	K (+)	K (-)
E.S	I	9,85	10,16	11,23	11,45	27,90	0
	II	9,93	10,19	11,68	11,68	29,73	0
	Total	19,78	20,35	22,91	23,13	57,63	0
	Rata-rata	9,89	10,17	10,45	11,56	28,81	0
E.G	I	9,95	11,42	14,28	14,66	26,3	0
	II	8,8	11,36	12,66	14,27	29,51	0
	Total	18,73	22,79	26,94	28,93	55,81	0
	Rata-rata	9,37	11,39	13,47	14,46	27,90	0
E.E	I	8,58	11,53	13,92	13,89	29,55	0
	II	9,48	11,35	12,33	13,4	30,35	0
	Total	18,06	22,88	26,25	27,29	59,9	0
	Rata-rata	9,03	11,44	12,45	13,64	29,95	0
Et.S	I	6,9	8,5	8,71	8,96	26,95	0
	II	6,8	7,26	8,42	8,83	27,31	0
	Total	13,7	15,76	17,13	17,79	54,26	0
	Rata-rata	6,85	7,88	8,56	8,89	27,13	0
Et.G	I	8,56	9,48	11,75	12,79	26	0
	II	8,15	9,48	11,08	12,18	28,55	0
	Total	16,71	18,96	22,83	24,97	54,55	0
	Rata-rata	8,35	9,48	11,41	12,48	27,27	0
Et.E	I	8,56	9,79	10,01	10,98	26,71	0
	II	8,4	8,85	9,98	10,41	28,88	0
	Total	16,96	18,64	19,99	21,39	55,59	0
	Rata-rata	8,48	9,32	9,99	10,69	27,79	0

Keterangan: ES = Ekstrak etanol Soppeng.

E.G = Ekstrak etanol Gowa

E.E = Ekstrak etanol Enrekang

Et. S = Ekstrak Etil Asetat Soppeng

Et. G = Ekstrak Etil Asetat Gowa

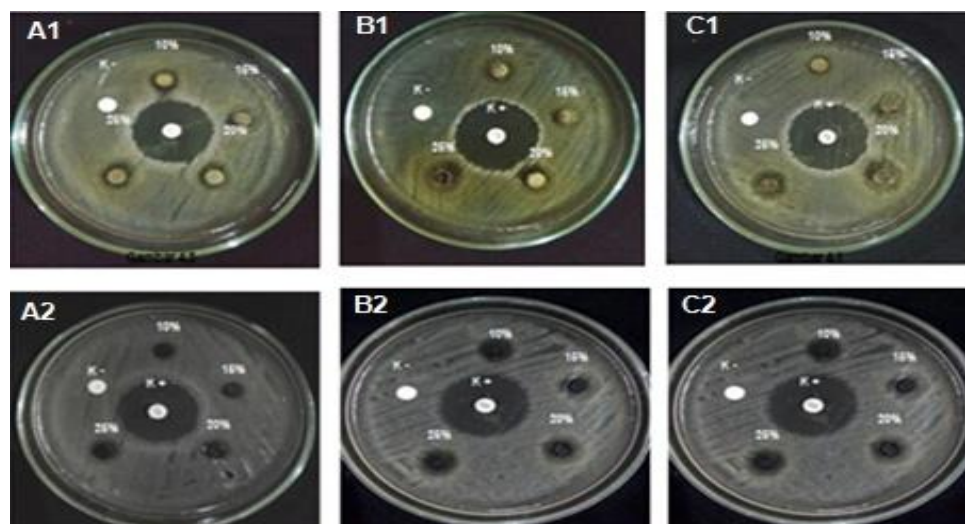
Et. S = Ekstrak Etil Asetat Enrekang

Berdasarkan pada Tabel 1, perolehan persen rendamen terbanyak ekstrak daun murbei dengan bahan penyari etanol (ekstrak etanol) sedangkan yang terkecil pada ekstrak etil asetat. Menurut Wardani dan Leviana (2010) bahwa perbedaan rendamen ini disebabkan antara lain

karena perbedaan kemampuan masing-masing cairan penyari dalam proses ekstraksi untuk memperoleh zat aktif yang terkandung dalam simplisia tersebut dan kelarutan zat aktif dalam cairan penyari yang berbeda.

Hasil dari ekstrak yang diperoleh dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun murbei terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan variasi konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20% dan 25%. Berdasarkan hasil pengukuran uji aktivitas antibakteri diperoleh diameter zona

hambat yang terbesar terdapat pada ekstrak etanol 25% yaitu 14,46 mm (Gowa). Diameter zona paling rendah diperoleh pada ekstrak etanol 10% yaitu 6,85 mm (Soppeng) (Tabel 2). Tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin besar



Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak Murbei pada Plating Media NA Inkubasi 24 Jam: A1 = Etanol Soppeng

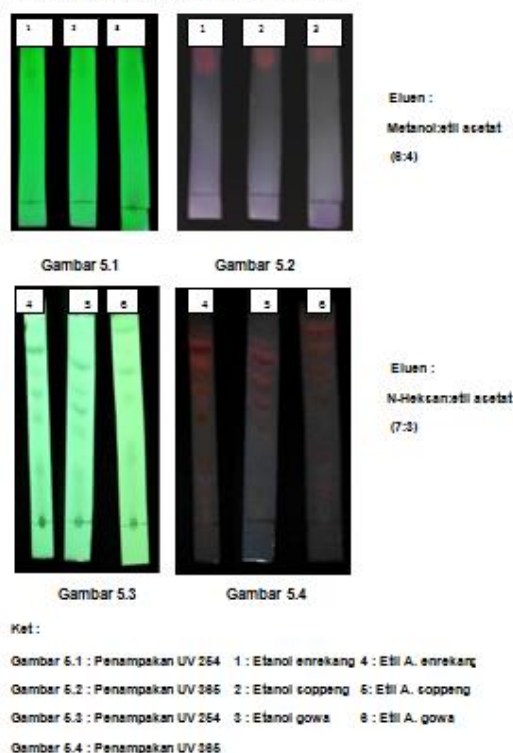
- A2 = Etilasetat Soppeng
 B1 = Etanol Gowa
 B2 = Etil Gowa
 C1 = Etanol Enrekang
 C2 = Etil asetat Enrekang

Tabel 3. Perhitungan Nilai RfEkstrak Daun Murbei

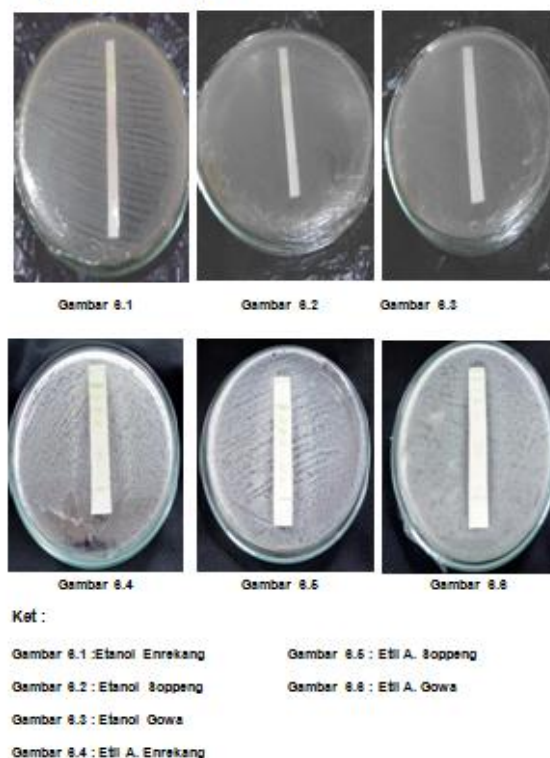
Ekstrak	Eluen	Noda	Nilai Rf	
		teramati	UV 254	UV 365
E.S	etil asetat: metanol (6:4)	Noda I	-	0,64
E.G		Noda I	-	0,72
E.E	n-heksan:etil asetat (7:3)	Noda I	-	0,63
Et.S		Noda I	0,19	0,05
		Noda II	0,43	0,19
		Noda III	0,56	0,43
		Noda IV	0,76	0,56
Et.G		Noda V	-	0,76
		Noda I	0,23	0,10
		Noda II	0,54	0,23
	Noda III	0,67	0,54	
	Noda IV	0,87	0,67	
Et.E	Noda V	-	0,76	
	Noda VI	-	0,87	
	Noda I	0,18	0,07	
	Noda II	0,63	0,16	
	Noda III	0,70	0,63	
	Noda IV	0,8	0,70	

Noda V	0,89	0,8
Noda VI	-	0,89

Lampiran 5. KLT Ekstrak Etanol dan Etil Asetat



Lampiran 6. KLT Bioautografi



pula aktifitas antibakteri. Hal ini disebabkan oleh makin tingginya konsentrasi senyawa-senyawa berkhasiat yang terkandung untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Gambar 1).

Hasil nilai R_f yang diperoleh pada analisis KLT bioautografi dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak semua noda yang teramati pada UV $\lambda_{365\text{nm}}$ mampu teramati pada UV $\lambda_{254\text{nm}}$. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh daya retensi dan kromofor

setiap kumpulan senyawa berbeda-beda. Menurut Sastrohamidjojo (1991) bahwa penampakan noda pada UV 254 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng sedangkan pada UV 365 karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh ausokrom yang ada pada noda tersebut.

D. KESIMPULAN

Dari hasil KLT bioautografi yang telah dilakukan, ekstrak etil asetat memiliki zona hambat yang menandakan adanya aktivitas antibakteri sedangkan pada ekstrak etanol tidak menunjukkan adanya zona hambatan. Tidak adanya penghambatan pertumbuhan bakteri diduga karena konsentrasi ekstrak hasil kromatografi yang didapat terlalu kecil atau karena adanya efek sinergisme antar senyawa (Mangunwardoyo dkk, 2009). Menurut Colegate dan Molyneux (1993) persentase kandungan

komponen senyawa yang terdapat dalam bahan, menentukan aktifitas bioaktif dari bahan tersebut

Bioautografi merupakan metode skrining mikrobiologi yang bertujuan mendeteksi adanya aktivitas antimikroba. Daerah hambatan ditunjukkan dengan adanya spot antimikroba pada permukaan media agar (Choma, 2010). Analisis KLT bioautografi dilakukan dengan menempelkan lempeng KLT pada medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji dan diinkubasi 1×24 jam.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Choma, I.M., &Edyta, M. G. 2010. Bioautography Detection in Thin Layer Chromatography. *Journal of Chromatography A* Choma-351708
- Colegate, S. M., dan Molyneux R., J. 1993. *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*. Cambridge: CRC Press.
- El-Beshbishy, H.A., Singab, A.N.B., Sinkkonen, J.,& Pihlaja, K. 2006. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L.(Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in chlosterol-fedrats. *Life sciences* 78, 2724-2733
- Enkhamaa, B., Shiwaku, K., Katsube, T., Kitajima, K., Anuurad, E., Yamasaki, M.,& Yamane, Y. 2005. Mulberry (*Morus alba*L.) leaves and their major flavonolquercetin 3-(6-maloylglucoside) attenuate atherosclerotic lesion development in LDL receptor-deficient mice. *The Journal of nutrition* 135, 729-734.
- Haryanto, Susgeng. 2009. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*.Palmall: Yogyakarta.
- Hastuti, U.S., Oktantia, A., &Khasanah, H.N., 2012. *Daya Antibakteri Ekstrak Daun dan Buah Murbei (Morus albaL.) Terhadap Stapylococcus aureus dan Shigelladysenteriae*, in: Prosiding Seminar Biologi.
- Kang, T.H., Hur, J.Y., Kim, H.B., Ryu, J.H.,& Kim, S.Y. 2006. Neuroprotective effects of the cyanidin-3-O-β-d-glucopyranoside isolated from mulberry fruit againt cerebral ischemia. *Neuroscience letters* 391: 122-126
- Iqbal, S., Younas, U., Chan, K.W., Safraz, R.A., & Uddin, M. K. 2012. Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of Mulberry (*Morus* sp.): a comparative study. *International journal of molecular sciences* 13, 6651-6664
- Mangunwardoyo, Wibowo, Eni Cahyaningsih, Tepy Usia. 2009. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7 (2).
- Noverita, D.F., Sinaga, E., Nasional, F,B,U., Manila, J.S., Pejatn, P,M., Selatan, J., 2009.Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun dan rimpangZingiberottensii Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4, 171-176.
- Pelczar, M.J., &Chan, E.C.S. 2005.*Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press: Jakarta
- Salisbury, F.B., & C.W. Ross. 1995. *Fisiologi tumbuhan*. Jilid 1 Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryo. Bandung: ITP
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi Edisi II*. Liberty. Yogyakarta.
- Wardani, A.T., & Leviana, F., 2010. The Influence of Solvent on Yield and Tannin Content in an Extract of Guava Leaves (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*.
- Yuliani, S. 2001, Prospek Pengembangan Obat Tradisional Menjadi Obat Fitofarmaka, *Jurnal Litbang Pertanian*, 20 (3).