

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, AIR BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.) DAN FRAKSI-FRAKSINYA TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Yosua Bayu Kristianto^{*)}, Indah Sulistyarini, Ririn Suharsanti
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi Semarang”
Jl. Letjend Sarwo Edie Wibowo KM.1 Plamongsari, Semarang 50193
^{*)}email: yosuabayu33@gmail.com

ABSTRACT

Infection is a disease caused by the entry of a pathogenic microorganism in the body's tissues. One of the bacteria that can cause infection is Staphylococcus aureus. Beans are one of the plants that contain alkaloids, flavonoids and saponins. Which is believed to inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria. This study aims to determine the antibacterial activity of extracts and its fraction on the growth of Staphylococcus aureus bacteria at concentrations of 5%, 10%, and 15%. Bean powder was remacerated with 70% ethanol for 3 days, and the extract obtained was subjected to fractionation with n-hexane, ethyl acetate, and water using a separating funnel. The antibacterial activity on the extract and each fraction was made with a concentration of 5, 10, and 15% using the agar well method. Dimethyl Sulphoxide (DMSO) as a negative control and ciprofloxacin 0.005% as a positive control. Antibacterial activity was measured using the inhibition zone diameter of bacterial growth. The results showed that the average inhibition zone diameter of ethanol extract, n-hexane fraction and ethyl acetate fraction of beans at concentration of 5%, 10% and 15% respectively were of 0.842; 0.935 and 1.042 cm. The n-hexane fraction is 0.595; 0.787; and 0.947 cm. Ethyl acetate fraction of 0.926; 1,008 and 1,049 cm. Whereas the water fraction does not provide antibacterial activity. The contact bioautography test results showed that alkaloid compounds, flavonoids and saponins were able to inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria. The conclusions of this study are ethanol extract, n-hexane fraction, and ethyl acetate fraction of chickpeas having antibacterial activity against Staphylococcus aureus bacteria, but the water fraction has no antibacterial activity against S. aureus; there was a significant difference ($p < 0.05$) between the extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction.

Keywords: *string beans, fractionation, antibacterial, Staphylococcus aureus, bioautography.*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang. Infeksi merupakan penyakit utama dan penyebab kematian nomor satu di negara tropis, terutama di Indonesia. Keadaan udara yang lembab, berdebu serta temperatur yang hangat menyebabkan mikroba dapat tumbuh

subur. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri (Priyanto & Batubara, 2008). Salah satu bakteri yang menimbulkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus*.

Penyakit infeksi dapat ditanggulangi dengan menggunakan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik yang kurang tepat dan dalam jangka waktu lama dapat

menyebabkan beberapa efek samping, seperti terjadinya efek toksik, alergi dan resistensi pada bakteri.

Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan beberapa senyawa lain yang bersifat sebagai antibakteri (Soedibyo, 1998). Selain itu, potensi buncis untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat herbal sangat besar karena beberapa penelitian telah menunjukkan adanya aktivitas biologis seperti antidiabetes, antikolesterol dan sebagai antioksidan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air buncis bersifat antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus*.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah serbuk kering buncis, etanol 70%, siprofloksasin, DMSO, Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Manitol salt agar* (MSA), larutan ½ Mc Farland dan aquadest steril, serbuk Mg, HCl pekat, amyl alkohol, HCl 2N, *dragendroff*, *bouchardat*, FeCl₃ 10%, NaCl, gelatin, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, NaNO₂, NaOH, asam sulfanilat, asam salisilat, etil asetat, kloroform, n-butanol, asam asetat glasial, air, n-heksan, etil asetat, toluen, NH₃, anisaldehyd-H₂SO₄.

Alat yang digunakan untuk penelitian adalah almari pengering, blender, neraca analitik, vacuum *rotary evaporator*, ayakan *mesh* 30/40, bejana untuk remaserasi, alat-alat gelas, statif, klem, cawan porselen, *waterbath*, lempeng silica gel GF 254, lampu UV 254 nm, otoklaf, LAF, jarum ose, cawan petri, bunsen, pinset, mikropipet, *cylinder cup*, inkubator, jangka sorong, spektrofotometer UV-Vis- 1240 Shimadzu.

Cara kerja, buncis dikeringkan dan diserbukkan diekstraksi dengan cara remaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang didapat diuapkan

dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental etanol. Ekstrak kental tersebut dilakukan skrining fitokimia dan KLT yang selanjutnya dilakukan proses fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air. Masing-masing kelompok fraksi dilakukan skrining fitokimia dan KLT. Ekstrak kental dan masing-masing fraksi kental dibuat konsentrasi 5%, 10% dan 15% untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada media *Manitol salt agar* (MSA). Ekstrak kental dan masing-masing fraksi kental yang memberikan zona hambat kemudian dilakukan identifikasi senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode bioautografi kontak yang ditandai dengan munculnya zona bening bekas lempeng KLT yang ditempelkan di atas media MSA selama 30 menit. Uji aktivitas antibakteri dan bioautografi kontak diinkubasi selama 24 jam suhu 37° C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak kental yang diperoleh menghasilkan rendemen sebesar 27,12 % dari 200 g sampel serbuk kering buncis. Pemisahan 10 g ekstrak kental buncis menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air menghasilkan masing-masing rendemen 21,30 % untuk fraksi n-heksan, 28,76% untuk fraksi etil asetat dan 40,67 % untuk fraksi air.

Ekstrak kental buncis dilakukan uji bebas etanol, untuk mengetahui ekstrak sudah bebas dari etanol, karena dikhawatirkan yang memberikan aktivitas antibakteri dapat disebabkan oleh adanya etanol, bukan murni dari senyawa aktif ekstrak. Hasil pengujian adalah ekstrak sudah bebas dari etanol.

Ekstrak kental, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air buncis kemudian dilakukan skrining fitokimia dan uji penengasan senyawa menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Uji pendahuluan merupakan tahap awal dalam mengidentifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam buncis dengan reaksi warna. Uji KLT ditujukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak maupun

fraksi melalui nilai Rf dan warna noda. Data hasil uji pendahuluan dan uji KLT ekstrak kental, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air buncis dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Uji Pendahuluan Ekstrak dan Fraksi Buncis

Sampel	Senyawa Uji					
	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Saponin	Fenolik	Steroid/ Terpenoid
Sebuk	+	+	-	+	+	-
Ekstrak etanol	+	+	-	+	+	-
Fraksi n-heksan	+	+	-	+	-	-
Fraksi etil asetat	+	+	-	+	+	-
Fraksi air	-	-	-	-	-	-

Tabel 2. Identifikasi KLT Ekstrak dan Fraksi Buncis

Sampel Uji	Ekstrak Etanol	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Alkaloid	+	+	+	-
Flavonoid	+	+	+	-
Saponin	+	+	+	-
Tanin	-	-	-	-

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi n- heksan dan fraksi etil asetat menggunakan metode difusi sumuran dengan masing-masing konsentrasi 5%, 10% dan 15%. Media yang digunakan adalah media MSA (*Mueller Salt Agar*). Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin, yang merupakan antibakteri spektrum luas yang efektif melawan bakteri gram positif dan

bakteri gram negatif yang patogen. Dalam pembuatan konsentrasi fraksi buncis dilarutkan dengan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), sehingga kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari buncis disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Buncis

Sampel	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (cm)				
	Konsentrasi				
	5%	10%	15%	K +	K -
Ekstrak etanol	0,842 ± 0,028	0,935 ± 0,016	1,042 ± 0,024	1,248 ± 0,019	0,000
Fraksi n-heksan	0,595 ± 0,022	0,787 ± 0,022	0,974 ± 0,040	1,217 ± 0,026	0,000
Fraksi etil asetat	0,926 ± 0,025	1,008 ± 0,006	1,049 ± 0,018	1,211 ± 0,023	0,000
Fraksi air	0,000	0,000	0,000	1,202 ± 0,018	0,000

Berdasarkan Tabel 3, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dari

buncis pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% menunjukkan adanya aktivitas antibakteri

terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* ATCC 34211. Pada fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling besar yang ditunjukkan dengan rata-rata zona hambat yang lebih besar dibanding dengan ekstrak etanol dan fraksi n-heksan. Perbedaan besarnya diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat salah satunya disebabkan oleh kandungan senyawa pada masing-masing sampel. Purwanto (2015), menyatakan besarnya diameter zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh tinggi rendahnya senyawa atau zat aktif yang terkandung di dalam fraksi tersebut. Selain itu, senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan saponin pada fraksi etil asetat dapat bekerja sebagai antibakteri sehingga menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibanding ekstrak etanol dan fraksi n-heksan karena di dalam ekstrak etanol masih mengandung senyawa yang kompleks, dimana senyawa-senyawa tersebut dapat menutupi dan menghalangi aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, sehingga zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol lebih kecil dibanding pada fraksi etil asetat. Sedangkan pada fraksi n-heksan memiliki daya antibakteri yang lebih rendah dari fraksi etil asetat terjadi akibat senyawa-senyawa yang tertarik dari fraksi n-heksan buncis memiliki intensitas zat antibakteri yang sedikit atau kurangnya potensi dari zat yang tertarik untuk membunuh bakteri dan hanya senyawa bersifat yang non polar yang dapat ditarik n-heksan. Pada fraksi air tidak memberikan aktivitas antibakteri karena dalam fraksi air, senyawa yang mampu mematikan bakteri mempunyai kadar yang kecil, sehingga tidak menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa flavonoid yaitu karena flavonoid memiliki gugus fenol yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba dengan cara

denaturasi, yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel berhenti (Jawetz *et al.*, 2005). Kemampuan senyawa alkaloid sebagai antibakteri sangat dipengaruhi oleh adanya gugus basa yang mengandung nitrogen. Gugus nitrogen bila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan asam amino penyusun dinding sel dan DNA bakteri. Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino sehingga akan mengalami kerusakan yang mendorong terjadinya lisis pada sel inti bakteri dan bakteri menjadi inaktif atau mati (Gunawan, 2008). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan akibatnya senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.* 2009).

Aktivitas antibakteri kandungan senyawa ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat dibuktikan secara kualitatif melalui uji bioautografi kontak. Golongan senyawa yang mempunyai daya antibakteri adalah alkaloid, flavonoid dan saponin.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol buncis memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus*, sedangkan pada fraksi air tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Ada perbedaan signifikan aktivitas antibakteri antara ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat buncis dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Sedangkan yang tidak memiliki perbedaan signifikan pada ekstrak etanol pada konsentrasi 10% dengan fraksi etil asetat pada konsentrasi 5% dan ekstrak etanol pada konsentrasi 15% dengan fraksi etil asetat konsentrasi 15%. Golongan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri menggunakan uji bioautografi kontak adalah alkaloid, flavonoid dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Gunawan, I. W. A. 2008. *Potensi Buah Pare (Momordica charantia L.) sebagai Antibakteri*. Jakarta: Swadaya.
- Jawetz, Melnick & Aldebrg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta : Salemba Medika
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. . *Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas L) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, dan Salmonella typhi ATCC 1408* *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 – 37. Pratiwi, S T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
- Priyanto, Batubara, L.2008. *Farmakologi Dasar*. Jakarta : Leskonfi.
- Purwanto, S. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (Melastoma malabathbunciusriucum L.) Terhadap Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*. Vol, 2. No. 2. Palembang : Program Studi keperawatan Universitas Sriwijaya.
- Soedibyo, M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta : Balai Pustaka.