

KOMPONEN UTAMA FRAKSI AKTIF ANTIBAKTERI DARI KULIT BATANG KANDIS GAJAH (*Garcinia griffithii* T. Anders) TERHADAP BAKTERI UJI PENYEBAB DIARE *Escherichia coli* DAN *Shigella dysenteriae*

¹Elfita*, ²Supriyatna, ³Husen H. Bahti, ⁴Dachriyanus

¹Staf Pengajar Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya, Kampus Inderalaya, Jl. Palembang-Prabumulih Km. 32, Inderalaya, Sumatra Selatan 30662,

²Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Kampus Jatinangor, Bandung 40600
Telp. (022) 7796200 Faks. (022) 7796200

³Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung –Sumedang Km. 21 Jatinangor, Sumedang 45363 Telp. (022) 7797712 Faks. 7794545

⁴Fakultas MIPA Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang 25163
Telp. (075) 171671 Faks. (075) 173118

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri komponen utama fraksi aktif kulit batang kandis gajah (*Garcinia griffithii*) terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Identifikasi terhadap senyawa hasil isolasi dilakukan berdasarkan uji fitokimia, spektroskopi ultraviolet dan inframerah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi heksana merupakan fraksi teraktif, diikuti oleh fraksi diklorometana dan metanol. Fraksi F1 heksana merupakan komponen utama, berupa senyawa steroid. Komponen utama ini memiliki gugus hidroksi, hidrokarbon alifatik, ikatan rangkap terisolasi, rangka dasar siklopentana, isopropil, dan ikatan karbon-oksigen.

Kata kunci: fraksi aktif, antibakteri, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Garcinia griffithii*.

ABSTRACT

This research was aimed to evaluate antibacterial activity of mayor active compound fraction of bark kandis gajah (*Garcinia griffithii*) against *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae*. Antibacterial testing was performed by diffusion method. Identification of the compounds was based on phytochemistry assay, ultraviolet and infrared spectroscopic method. The result showed that hexane fraction was the most active fraction, followed by dichloromethane and methanol fraction. Hexane F1 fraction was the major compound, it was a steroid. Major compound had hydroxyl group, aliphatic hydrocarbon, isolated unsaturated bond, cyclopentane structure, and isopropyl and carbon-oxygen bond.

Key words: active fraction, antibacterial, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Garcinia griffithii*.

PENDAHULUAN

Penyakit diare sangat berbahaya bila berlangsung beberapa waktu tanpa pengobatan yang cepat, karena tubuh kekurangan cairan sehingga penderita menjadi lemas yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Penyakit diare adalah salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada anak-anak di seluruh dunia yang menyebabkan satu milyar kejadian sakit dan 3 sampai 5 juta kematian setiap tahunnya.

Di Indonesia penyakit diare memiliki angka kematian yang tinggi terutama pada golongan anak di bawah lima tahun. Diare dapat terjadi pada siapa saja baik anak-anak maupun orang dewasa. Diare umumnya disebabkan oleh kelompok bakteri yang dapat hidup pada saluran pencernaan manusia yaitu kelompok Enterobacteriaceae. Oleh karena itu bakteri uji yang digunakan disesuaikan dengan khasiatnya dalam pengobatan yaitu *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Pemanfaatan tumbuhan dari genus *Garcinia* atau manggis-manggisian sebagai obat tradisional

sudah dikenal luas oleh masyarakat secara turun temurun. Dari keterangan yang diperoleh diketahui bahwa banyak spesies dari genus *Garcinia* ini yang menunjukkan aktivitas sebagai obat, di antaranya berkhasiat sebagai obat kanker, asma, diare, disentri, penurunan panas, obat batuk, dan obat setelah melahirkan (Mahabusarakam dan Pichaet, 1987). Salah satu spesies dari genus *Garcinia* yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat diare adalah *Garcinia griffithii* T.Anders atau yang lebih dikenal dengan tumbuhan kandis gajah.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan spesies ini mengandung golongan ksanton, dimana golongan ini memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antimalaria, antioksidan, antiinflamasi, antitumor, dan antikanker (Minami *et al.*, 1994). Penelitian terdahulu telah menemukan senyawa griffipaviksanton yang telah diuji memiliki aktivitas sitotoksik. Selain itu juga telah ditemukan senyawa 1,7-dihidroksiksanton yang memperlihatkan aktivitas sebagai antimikroba (Dachriyanus *et al.*, 2004), dan guttiferon.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bubuk kering kulit batang *G. griffithii*, n-heksana, diklorometana, metanol, pereaksi fitokimia, silika gel G60 70-230 mesh, KLT silika gel G60 F254, *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* sebagai bakteri uji, serta media uji antibakteri.

Alat

Alat yang digunakan antara lain adalah alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium Kimia Organik, evaporator vakum, timbangan analitis, Fischer John *Melting Point*, alat spektroskopi seperti spektrofotometer Ultraviolet (UV) dan Inframerah (IR).

Prosedur Percobaan

Sebanyak 1 kg bubuk kering sampel diekstraksi dengan cara maserasi berturut-turut menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana dan metanol. Selanjutnya dilakukan uji antibakteri pada masing-masing fraksi untuk mengetahui fraksi yang mempunyai aktifitas paling tinggi.

Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Dua puluh delapan g bubuk NA ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kapasitas 1000 mL. Selanjutnya dituangkan akuades sampai mencapai volume 1000 mL, dipanaskan di atas pemanas listrik sampai mendidih, diangkat, didiamkan sebentar, kemudian didistribusikan ke dalam tabung reaksi dan disterilisasi di dalam autoklaf pada tekanan 15 lbs, suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan media *Mueller Hinton Broth* (MHB)

Duapuluh satu g bubuk MHB ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kapasitas 1000 mL. Selanjutnya dituangkan akuades sampai mencapai volume 1000 mL, dipanaskan di atas pemanas listrik sampai mendidih, diangkat, didiamkan sebentar, kemudian didistribusikan ke dalam tabung reaksi dan disterilisasi di dalam autoklaf pada tekanan 15 lbs, suhu 121°C selama 15 menit.

Peremajaan bakteri *E. coli* dan *S. dysenteriae*

Jarum ose disterilkan di atas nyala bunsen dengan cara dipijarkan dan dibiarkan beberapa saat supaya

dingin. Sebanyak 1 ose biakan murni *E. coli* dan *S. dysenteriae* diambil, kemudian diinokulasikan biakan murni tersebut ke dalam media NA miring secara aseptik. Biakan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C (Jutono, 1973).

Pembuatan suspensi biakan *E. coli* dan *S. dysenteriae*

Pembuatan suspensi biakan *E. coli* dilakukan dengan cara mengambil satu ose biakan *E. coli* dari media NA kemudian dimasukkan ke dalam 10 mL media uji secara aseptik dan dihomogenkan. Kemudian jumlah sel yang ada dalam suspensi dihitung dengan menggunakan alat *counting chamber* *E. coli* hingga mencapai jumlah $\pm 10^5$ sel/mL. Sedangkan pembuatan suspensi *S. dysenteriae* dilakukan dengan cara yang sama, tetapi jumlah sel untuk *S. dysenteriae* yaitu 10^3 sel/mL (Hadioetomo, 1993)

Penentuan zona hambat

Uji antibakteri fraksi yang diperoleh dilakukan dengan metode Kirby-Bauer atau metode difusi cakram. Media NA dicairkan hingga mencapai suhu 45°C. Suspensi *E. coli* / *S. dysenteriae* masing-masing 10^5 sel/mL dan 10^3 sel/mL diinokulasikan

ke dalam cawan petri dan dituangkan media NA, kemudian dihomogenkan dan biarkan hingga padat. Dengan menggunakan pinset, dicelupkan masing-masing dua kertas cakram ke dalam tiap-tiap konsentrasi sampel. Kertas cakram diletakkan pada permukaan cakram yang berisi suspensi bakteri uji. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, kemudian diukur zona hambatnya (Cappucino & Sherman, 1992).

Isolasi dan identifikasi kandungan utama kulit batang kandis gajah

Fraksi yang memiliki aktifitas paling tinggi dipisahkan dengan teknik kromatografi. Sejumlah ekstrak aktif pekat dilarutkan, kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk memilih eluen yang sesuai, yang selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi kolom terbuka menggunakan fase diam silika gel 60. Fraksi kolom dengan faktor retensi sama digabungkan dan diuapkan. Pemurnian komponen utama yang terdapat dalam fraksi aktif tersebut dilakukan dengan rekromatografi kolom dan rekristalisasi sampai diperoleh senyawa murni dengan noda tunggal pada KLT. Selanjutnya diukur

titik leleh, uji fitokimia, dan pengukuran spektroskopi UV dan IR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Maserasi 1 kg bubuk kering kulit batang *G. griffithii* menghasilkan 35,2 g ekstrak pekat n-heksana, 23,5 g ekstrak pekat diklorometana dan 125,4 gr ekstrak pekat metanol. Masing-masing ekstrak diuji aktifitas antibakterinya dan hasil yang diperoleh bisa dilihat Tabel 1.

Dari Tabel 1 terlihat bahwa fraksi heksana memiliki aktifitas antibakteri paling tinggi yang diikuti oleh fraksi diklorometana dan fraksi metanol. Selanjutnya dipilih fraksi heksana untuk penelusuran komponen utamanya.

Isolasi kandungan aktif dilakukan dengan memisahkan 5 g ekstrak heksana dengan kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika gel 70-230 mesh sebanyak 60 g dan

eluen n-heksan : etil asetat secara bergradien, yang dilanjutkan dengan eluen etil asetat metanol secara bergradien dan didapatkan 4 fraksi kolom. Fraksi kolom 1 memiliki pola noda sederhana. Setelah rekromatografi kolom dan rekristalisasi diperoleh senyawa murni (19,3 mg) berwarna putih, berbentuk jarum dengan titik leleh 167-169°C. Uji fitokimia menghasilkan warna hijau dengan pereaksi Liberman Buchart, hal ini menunjukkan bahwa senyawa murni tersebut adalah senyawa steroid.

Analisis dengan spektroskopi UV menunjukkan tidak adanya serapan. Berarti pada senyawa murni hasil isolasi tidak terdapat transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ maupun $n \rightarrow \pi^*$.

Analisis dengan spektroskopi inframerah menghasilkan serapan seperti tertera pada Tabel 2.

Tabel 1. Diameter daerah hambat (cm) uji aktifitas antibakteri dari fraksi-fraksi kulit batang *G. Griffithii*

Fraksi	Bakteri uji	Diameter daerah hambat pada konsentrasi sampel % (b/v) (cm)			
		kontrol	2,0	4,0	6,0
Heksana	<i>E. coli</i>	0	1,66	1,66	2,30
	<i>S. dysenteriae</i>	0	1,21	1,52	1,60
Diklorometana	<i>E. coli</i>	0	1,11	1,08	1,44
	<i>S. dysenteriae</i>	0	0,84	1,10	1,11
Metanol	<i>E. coli</i>	0	0,65	0,77	1,10
	<i>S. dysenteriae</i>	0	0,50	0,85	1,42

Tabel 2. Taksiran spektrum inframerah senyawa murni

Bilangan gelombang ($\bar{\nu}$ cm ⁻¹)	Bentuk pita	Intensitas	Gugus terkait
3433,1	lebar	sedang	regang O-H
2935,5-2866,0	tajam	Kuat	regang C-H alifatik
1635,5	lebar	lemah	ikatan rangkap terisolasi
1461,9	tajam	sedang	lentur C-H untuk siklopentana
1377,1	tajam	sedang	lentur C-H untuk isopropil
1056,9	tajam	sedang	regang C-O

Berdasarkan spektrum inframerah diduga terdapat gugus hidroksi dengan serapan regang pada bilangan gelombang ($\bar{\nu}$) 3433,1cm⁻¹. Serapan pada $\bar{\nu}$ 2935,5-2866,0cm⁻¹ menunjukkan adanya regang hidrokarbon alifatik dan serapan pada $\bar{\nu}$ 1635,5 cm⁻¹ menunjukkan adanya ikatan rangkap yang terisolasi. Ciri khas adanya rangka dasar siklopentana terlihat dari munculnya serapan pada $\bar{\nu}$

1461,9cm⁻¹. Disamping itu ada ciri khas lain yaitu serapan pada $\bar{\nu}$ 1377,1cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus isopropil. Serapan pada $\bar{\nu}$ 1056,9cm⁻¹ menunjukkan regang karbon-oksigen.

KESIMPULAN

Fraksi kulit batang *G. griffithii* yang memiliki aktifitas antibakteri tertinggi terhadap *E. coli* dan *S.*

dysentriae adalah fraksi heksana, diikuti oleh fraksi diklorometana dan metanol. Dari fraksi F1 heksana diperoleh senyawa murni sebanyak 19,3 mg berwarna putih, berbentuk jarum dengan titik leleh 167-169°C yang merupakan komponen utama. Senyawa ini merupakan senyawa steroid yang memiliki gugus hidroksi, hidrokarbon alifatik, ikatan rangkap terisolasi, rangka dasar siklopentana, isopropil, dan ikatan karbon-oksigen.

DAFTAR PUSTAKA

- Cappurino, J.G., dan N Sherman. 1992. *Microbiology: A Laboratory Manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Dachriyanus, P. Amelia, dan Rustini. 2004. Isolasi Senyawa Antimikroba dari Kulit Batang *Garcinia griffithii* T. Anders. *Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam*. **13(2)**:114-118.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Jutono, 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum untuk Perguruan Tinggi*. Penerbit Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Mahabusarakam, W. dan W. Pichaet. 1987. Chemical constituent of *Garcinia mangostana*. *J.Nat.Prod*, **50**:474-478.
- Minami, H., M. Kinoshita, Yoshiyasu, M. Fukuyama, T. Kodama, M. Yoshizawa, K. Sugiura, Nakagawa and H. Tago. 1994. Antioxidant xanthenes from *Garcinia subeliptica*, *J. Phytochemistry*. **36(2)**: 501-506.