

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm.f) Wallich ex Nees) TERHADAP BAKTERI *Bacillus subtilis* ATCC 6633**

Lanny Mulqie<sup>1</sup>, Siti Hazar<sup>1</sup>, Agytesa Ficri Septian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Prodi Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Bandung, Jawa Barat, Indonesia  
email: lannymulqie.26@gmail.com

**ABSTRAK**

Sambiloto merupakan salah satu tumbuhan berkhasiat Indonesia yang secara farmakologi memiliki sifat sebagai antiinflamasi, antibakteri, antimalaria, antiviral, imunostimulator, hepatoprotektif, kardiovaskular, dan antikanker. Beberapa penelitian tentang sambiloto pernah dilakukan, tetapi belum diketahui aktivitas fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633 melalui penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan nilai kesetaraan fraksi etil asetat terhadap antibiotika pembanding, serta kromatografi lapis tipis (KLT) Bioautografi. Fraksionasi dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Penentuan KHM dilakukan dengan metode difusi agar, kemudian ditentukan nilai kesetaraan fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap antibiotika pembanding (tetrasiklin). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai KHM fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633 sebesar 16%. Aktivitas 1 mg fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633 setara dengan  $4,457 \times 10^{-5}$  mg tetrasiklin. Golongan senyawa fraksi etil asetat daun sambiloto yang diduga memiliki aktivitas antibakteri adalah monoterpen dan seskuiterpen.

**Kata kunci :** antibakteri, *Andrographis paniculata* (sambiloto), fraksi etil asetat, *Bacillus subtilis* ATCC 6633

**ABSTRACT**

Green chiretta is one of Indonesia's nutritious plants that has pharmacological properties as anti-inflammatory, antibacterial, antimalarial, antiviral, immunostimulator, hepatoprotective, cardiovascular, and anticancer. Several studies on green chiretta have been done, but no activity of ethyl acetate fraction of green chiretta leaves to *Bacillus subtilis* ATCC 6633 has been known. Antibacterial activity of ethyl acetate fraction of green chiretta leaves against *Bacillus subtilis* ATCC 6633 bacteria had been done by determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and the equivalence to reference antibiotic, and bioautographic thin layer chromatography (TLC). The fractionation was carried out by liquid-liquid extraction using solvents n-hexane, ethyl acetate, and water. Determination of MIC were performed using agar diffusion method, then followed by determination equivalence of reference antibiotic (tetracycline). The results showed that the MIC value of ethyl acetate fraction of green chiretta leaves against *Bacillus subtilis* ATCC 6633 was 16%. Activity of 1 mg ethyl acetate fraction was equivalent to  $4.457 \times 10^{-5}$  mg of tetracycline. The compound of ethyl acetate fraction of green chiretta leaves which assumed to have antibacterial activity was monoterpen and sesquiterpen classes.

**Keywords :** antibacterial, *Andrographis paniculata* (green chiretta), ethyl acetate fraction, *Bacillus subtilis* ATCC 6633

## PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker direkomendasikan oleh WHO sebagai bentuk dukungan terhadap konsep *back to nature*. Indonesia merupakan potensi pasar obat herbal dan fitofarmaka karena saat ini memiliki lebih kurang 30.000 spesies tumbuhan dan 940 diantaranya termasuk tumbuhan berkhasiat (Widyawati, 2007). Sambilotto merupakan salah satu tumbuhan berkhasiat Indonesia yang secara farmakologi memiliki sifat sebagai antiinflamasi, antibakteri, antimalaria, antiviral, imunostimulator, hepatoprotektif, kardiovaskular, dan antikanker (Jarukamjorn, K. dan Nemoto, N., 2008; Bangun, 2012). Kandungan utama dari sambilotto adalah *diterpenoide lactones* (*andrographolide*) dan flavonoid yang dapat larut dalam pelarut semipolar seperti etil asetat (Bangun, 2012).

Beberapa penelitian tentang sambilotto pernah dilakukan. Perasan daun sambilotto (*Andrographis paniculata* Nees) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 (Sawitti, 2013). Penelitian lain menyebutkan bahwa infus daun sambilotto dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Retnowati, 2011). Selain itu, ekstrak etanol daun sambilotto memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* (Putri, 2011). Namun belum diketahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sambilotto terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sambilotto terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah fraksi etil asetat daun sambilotto memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633, menentukan nilai KHM dan nilai kesetaraan fraksi etil asetat terhadap antibiotika pembanding (tetrasiklin), serta menentukan golongan senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat melalui KLT Bioautografi.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Maserator, *rotary vacuum evaporator* (Buchi), neraca analitik (Sartorius), gelas ukur, batang pengaduk, corong, labu erlenmeyer, corong pisah, cawan petri, mortar, stamper, deksikator, autoklaf, bunsen, pipet ukur, tabung reaksi, vial 5ml dan 10 ml, pipet ukur, pipet mikro, jarum ose, inkubator, lampu UV 254 dan bejana.

### Bahan

Daun sambilotto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wallich ex Nees) yang diperoleh dari Kebun Cimanggu Balitro Bogor, akuades, etanol 95%, etil asetat, n-heksan, Nutrien agar (NA), NaCl fisiologis, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), kapsul tetrasiklin 500 mg, larutan Mc. Farland (campuran larutan BaCl<sub>2</sub> 1% dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%), kloroform, metanol, NaOH 1N, serbuk Mg, HCl, amil alkohol, FeCl<sub>3</sub>, pereaksi Lieberman-Burchard (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, etanol 95% dan asam asetat anhidrat), pereaksi Mayer (larutan raksa klorida dan larutan kalium iodida), 10% vanilin dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, kertas saring, lempeng KLT silika gel GF<sub>254</sub>. Bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

### Metode

#### Ekstraksi dan Fraksionasi Daun Sambilotto

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi 3 x 24 jam dengan menggunakan etanol 95% sebagai pelarut. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya terhadap ekstrak etanol dilakukan fraksionasi dengan menggunakan air, n-heksan, dan etil asetat.

#### Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dan Penentuan KHM

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan cakram kertas. Cakram kertas yang berisi fraksi etil asetat ditempelkan terhadap media Nutrien Agar (NA) yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penentuan KHM

dilakukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum yang dapat menghasilkan zona hambat.

#### Penentuan Kesetaraan Aktivitas Fraksi Etil Asetat terhadap Antibiotika Pembeding (Tetrasiklin)

Kesetaraan aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap tetrasiklin dilakukan dengan cara mengukur zona hambat yang dihasilkan oleh tetrasiklin terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dalam beberapa konsentrasi, kemudian dibandingkan dengan fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Hubungan log konsentrasi tetrasiklin terhadap diameter hambat dimasukkan ke persamaan garis sehingga didapatkan nilai kesetaraannya.

#### KLT Bioautografi

KLT dilakukan menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan dielusi dengan n-heksan:etil asetat (4:6) yang menggunakan larutan vanillin 10% dalam asam sulfat sebagai penampak bercak. Bioautografi dilakukan dengan cara menyentuh lempeng KLT yang telah dielusi pada permukaan media agar yang sudah mengandung bakteri uji. Setelah 30 menit lempeng KLT tersebut diangkat dan dipindahkan. Kemudian pada medium yang telah ditempati lempeng KLT dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam diamati zona hambat yang terbentuk dan dihitung nilai Rf nya.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Ekstraksi dan Fraksionasi

Proses maserasi dari 500 gram serbuk daun sambiloto menghasilkan ekstrak kental sebanyak 72,59 gram (rendemen 14,52 %) sedangkan proses fraksionasi dari 32,32 gram ekstrak kental yang difraksionasi diperoleh 22,53 gram fraksi etil asetat.

#### Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia fraksi etil asetat daun sambiloto dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Penapisan fitokimia ekstrak dan fraksi etil asetat daun sambiloto

Golongan Senyawa	Hasil Identifikasi	
	Simplisia	Fraksi Etil Asetat
Alkaloid	-	-
Polifenolat	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	-
Kuinon	+	-
Tanin	+	-
Monoterpen dan Seskuiterpen	+	+
Steroid	+	+

#### Keterangan:

(+) terdeteksi ; (-) tidak terdeteksi

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa simplisia daun sambiloto mengandung polifenolat, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, monoterpen dan seskuiterpen serta steroid. Pada fraksi etil asetat terdapat polifenolat, flavonoid, monoterpen dan seskuiterpen, serta steroid. Penelitian yang dilakukan Sinaga (2016), pada ekstrak etil asetat terdeteksi adanya golongan senyawa terpenoid dan steroid. Hal tersebut sama dengan hasil pengujian yang dilakukan dimana fraksi etil asetat daun sambiloto mengandung golongan senyawa monoterpen dan seskuiterpen, serta steroid. Minyak atsiri dapat menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri dan terlepasnya material sel, baik material anorganik (ion-ion) maupun material organik yaitu protein dan asam nukleat (Miksusanti, 2008).

#### Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Sambiloto terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dan Penetapan KHM.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Sambiloto terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Perlakuan	Rata-Rata Diameter Hambat Fraksi etil asetat ± SD (cm)
FEA 50%	1,78 ± 0,28
FEA 25%	1,31 ± 0,54
FEA 20%	1,18 ± 0,44
FEA 19%	0,95 ± 0,09
FEA 18%	0,69 ± 0,39
FEA 17%	0,66 ± 0,26
FEA 16%	0,82 ± 0,30
FEA 15%	0
Kontrol (DMSO)	0

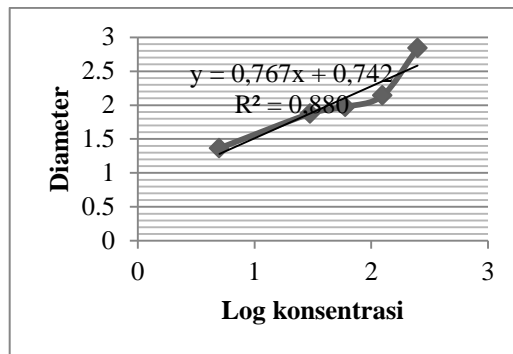
**Keterangan:**

FEA = Fraksi Etil Asetat; SD = Standar Deviasi; diameter kertas = 0,6 cm

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa uji aktivitas fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633 menunjukkan adanya zona hambat. Zona hambat fraksi etil asetat daun sambiloto terbesar dihasilkan oleh konsentrasi 50% yaitu  $1,776 \pm 0,28$ , sedangkan terkecil pada konsentrasi 16% yaitu sebesar  $0,827 \pm 0,30$  cm. Konsentrasi hambat minimum (KHM) yang dihasilkan oleh fraksi etil asetat daun sambiloto yaitu 16%.

**Kesetaraan Aktivitas Fraksi Etil Asetat terhadap Antibiotika Pembanding (Tetrasiklin)**

Persamaan regresi linier antara log konsentrasi tetrasiklin dengan diameter zona hambat terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633 adalah  $y = 0,767x + 0,742$ , dengan  $R^2 = 0,880$ . Hasil perhitungan didapat bahwa 1 mg fraksi etil asetat daun sambiloto setara dengan  $4,457 \times 10^{-5}$  mg tetrasiklin.



**Gambar 1.** Kurva aktivitas tetrasiklin terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633

**KLT Bioautografi**

Hasil KLT bioautografi fraksi etil asetat daun sambiloto terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (**Gambar 2**) menunjukkan bahwa terbentuk zona hambat pada noda hasil elusi fraksi etil asetat menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (4:6). Zona hambat terbentuk pada Rf 0,36.



**Gambar 2.** Hasil pengujian KLT bioautografi fraksi etil asetat terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Pemantauan KLT fraksi etil asetat daun sambiloto dilakukan menggunakan fasa diam silika gel GF<sub>254</sub> dan eluen n-heksan - etil asetat (4:6), serta larutan vanillin 10% dalam asam sulfat sebagai penampak bercak spesifik untuk golongan senyawa terpenoid. Pada kromatogram (**Gambar 3**) terdapat bercak yang berwarna ungu yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung monoterpen dan seskuiterpen.



**Keterangan :**

Eluen = n-heksan : etil asetat  
(4 : 6)

Lempeng = silika gel GF<sub>254</sub>

**Gambar 3.** Hasil pengamatan elusi fraksi etil asetat daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wallich ex Nees) setelah disemprot dengan pereaksi semprot vanilin 10% dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

**KESIMPULAN**

Hasil pengujian uji aktivitas antibakteri daun sambiloto menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun sambiloto memiliki aktivitas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Nilai KHM fraksi etil asetat terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633 yaitu sebesar 16%. Aktivitas 1 mg fraksi etil asetat daun sambiloto setara dengan  $4,457 \times 10^{-5}$  mg tetrasiklin. Golongan senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dalam fraksi etil asetat daun sambiloto adalah monoterpen dan seskuiterpen.

**DAFTAR PUSTAKA**

Bangun, A. (2012): Ensiklopedia Tanaman Obat: Indonesia Publishing House Bandung.

Jarukamjorn, K. And Nemoto, N. (2008): Pharmacological Aspect of *Andrographis paniculate* on Health and Its Major Diterpenoid Constituen Andrographolide, *Jurnal of Health Science*, Vol. 54.

Miksusanti,Jennie, B.S.L., Ponco, B., Trimulyadi, G. (2008): Kerusakan Dinding Sel *Escherichia coli* Kl. I oleh Minyak Atsiri Temu Kunci (*Kaempferia pandurata*), *Jurnal Ilmiah Nasional Berita Biologi*, Vol. 9 (1), 1.

Sawitti, M.Y., Mahatmi, H., Besung, I.N.K. (2013): Daya hambat perasan daun sambiloto terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *IndonesiaMedicus Veterinus*, 2(2), 142-150.

Sinaga, L., Suryanto, D., Lesmana, I. (2016): Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Dalam Mengendalikan Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Edwarsiella tarda* dan Jamur *Saprolegnia* sp. Secara In Vitro, *Jurnal Aquacoastmarine*, Vol. II.

Widyawati, T. (2007): Aspek farmakologis sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness), *Majalah Kedokteran Nusantara*, Vol.40 (3), 216.