

AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) DAN JATI BELANDA (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) TERHADAP MIKROBA PATOGEN SECARA BIOAUTOGRAPHY-TLC

Herwin, St. Maryam

Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar
Email: herwinfarmasi@gmail.com

ABSTRACT

An investigation has been conducted on the antimicrobial activities of extract teh hijau leaves (*Camellia sinensis*) and jati belanda leaves (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) using TLC-Bioautography. The aim of this research is to test the antimicrobial activity of extract against some pathogen microbes. The preliminary research conducted screening test using several type of microbes including *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, and *Vibrio cholera*. The screening results of extract inhibited almost all of pathogen microbes, except *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* for extract teh hijau leaves and *Vibrio cholera*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* for extract jati belanda leaves. The research was continued with the antimicrobial activity against severeral microbes at different Rf and the result showed that the higher inhibited at *Staphylococcus epidermidis* Rf 0,02 and *Shigella dysenteriae* Rf 0,49, 0,73 and 0,8 for teh hijau leaves, *Pseudomonas aeruginosa* Rf 0,02 dan 0,49 for jati belanda leaves. That extracts have antimicrobial activity to several pathogen microbes, so that are can use as one of alternative antimicrobial.

Keywords : Teh Hijau leaves (*Camellia sinensis*), Jati Belanda leaves (*Guazuma ulmifolia* Lamk.), TLC-Bioautography, Antimicrobial.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan dan kebutuhan tanaman sebagai obat sekarang ini merupakan peluang besar untuk pengembangan obat tradisional yang efek samping sangat relatif kecil dibandingkan dengan obat modern namun diperlukan pengujian aktivitas dan pengujian pra-klinis untuk mengetahui khasiat, dosis dan keamanan sebagai obat tradisional

tersebut. Obat tradisional tersebut dapat digunakan untuk pengobatan infeksi. Penyakit infeksi saat ini masih menjadi masalah serius di Indonesia, ditambah lagi dengan semakin meluasnya resistensi mikroba terhadap obat-obat antibiotika yang telah tersedia. Hal tersebut mendorong pentingnya penggalian sumber obat-obat antimikroba lain dari bahan alam. Tanaman obat diketahui potensial

untuk dikembangkan lebih lanjut pada pengobatan penyakit infeksi, namun masih banyak yang belum dibuktikan bioaktivitasnya secara ilmiah.¹

Keberadaan pengobatan tradisional Indonesia saat ini dikhawatirkan hilang karena pengobatan tradisional yang dianggap kuno, tidak ilmiah, tidak rasional, dan primitif karena tidak dilakukan uji klinis. Pengobatan dan pendayagunaan obat tradisional merupakan salah satu komponen program pelayanan kesehatan dasar.²

Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi modern yang semakin pesat dan canggih di zaman sekarang ini, ternyata tidak mampu menggeser begitu saja peranan obat-obat tradisional, tetapi justru hidup berdampingan dan saling melengkapi. Hal ini terbukti dari kecenderungan masyarakat untuk mencari pengobatan alternatif dengan menggunakan bahan alam. Salah satu pengembangan obat tradisional yang perlu dikembangkan adalah untuk pengobatan obesitas yaitu ekstrak teh hijau dan jati belanda bentuk sediaan. Penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa permen tersebut dapat menurunkan berat badan tikus, sehingga diperlukan penelitian aktivitas antimikroba secara

kromatografi lapis tipis bioautografi sehingga ekstrak teh hijau dan jati belanda penggunaannya dalam masyarakat lebih dapat termanfaatkan dan dipertanggungjawabkan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, (Smic Model YX-280 B), botol pengencer, cawan petri, gelas erlenmeyer 250 mL (Iwaki Pyrex), enkas, gelas ukur 100 mL (Iwaki Pyrex), gelas kimia 250 mL (Iwaki Pyrex), inkubator (Memmert), Laminar Air Flow (LAF), lampu spiritus, oven (Fisher), Lempeng kromatografi lapis tipis (TLC Silika Gel G 60 F₂₅₄), Spektrofotometri UV-visibel, timbangan analitik dan Timbangan kasar.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah air suling, etanol 96%, larutan NaCl 0,9%, medium Nutrien Agar (NA), medium Nutrien Broth (NB), Kultur bakteri patogen (*Basillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*), dan ekstrak ekstrak air daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk).

Proedur Penelitian

Ekstraksi dan partisi.³

Daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) yang telah diolah ditimbang sebanyak 500 g dan dimaserasi menggunakan metanol, dibiarkan selama 5 hari dengan pengadukan beberapa kali. Hasil penyarian yang didapat lalu dipisahkan dengan menggunakan rotavapor sampai diperoleh ekstrak metanol kental. Kemudian dipartisi padat-cair dengan air menggunakan alat corong pisah. Setelah itu lapisan air dipisahkan dan diuapkan hingga kering hingga diperoleh ekstrak kering.

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian dilakukan dengan metode dilusi padat dan dilusi cair. Dilusi padat dapat digunakan dalam skrining aktivitas dan dilusi cair digunakan untuk menentukan harga KHM dengan mengamati tingkat kekeruhan akibat pertumbuhan antimikroba secara visual.

Pengujian Skrining Aktivitas Antimikroba⁵

Ekstrak air daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dari masing-masing sampel dilarutkan dalam DMSO kemudian dicampurkan dengan NaCl fisiologis 0,9 %. Sampel

diambil dan diletakkan diatas disk blank. Medium glukosa nutrien agar (GNA) dicampur dengan mikroba uji yang kekeruhannya setara dengan standar Mc. Setiap cawan petri dibagi menjadi lima zona untuk masing-masing mikroba uji yaitu *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *V. cholerae*, *S. mutans*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. thypi*, dan *S. disentry*. Setelah itu disk blank diletakkan diatas media yang telah memadat. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri dan suhu kamar selama 72 jam untuk jamur.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Bioautography-TLC

Ekstrak air daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dan jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) yang diperoleh ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT), lalu dielusi dalam chamber yang berisi eluen (fase gerak) n-heksan : etil asetat (1:1). Setelah terelusi kromatogram dibiarkan kering, lalu dimasukkan ke dalam cawan petri dengan cara penempelan antara permukaan medium nutrien agar yang telah diinokulasi bakteri *Basillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio sp*, *Streptococcus mutans*,

Aktivitas antimikroba ekstrak daun teh hijau (Camellia sinensis) dan jati belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.) terhadap mikroba patogen secara Bioautography-TLC

Staphylococcus epidermidis dengan permukaan senyawa yang telah ditotol, kemudian dibiarkan berdifusi selama 60 menit lalu diangkat kromatogram. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Diamati zona penghambatan terhadap bakteri patogen pada medium dan diukur nilai rate of flow (Rf) senyawa pada kromatogram.

Pembuatan Pereaksi dan Identifikasi Komponen Kimia

Dilakukan identifikasi golongan komponen kimia yang aktif antimikroba meliputi pereaksi penampak bercak

saponin, flavonoid, dan tanin (Sustrisno, 1993).

Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data.⁴

Pengumpulan data dilakukan berdasarkan hasil ekstraksi dan pengujian aktivitas antimikroba berdasarkan pengujian skrining aktivitas, identifikasi golongan komponen kimia senyawa aktif dan aktivitas antimikroba ekstrak secara Bioautografi-TLC dan analisis data berdasarkan zona hambatan terhadap bakteri patogen yang bersifat bakteristatik atau bakterizid.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak Air Daun Teh Hijau Dan Jati Belanda Secara Dilusi Padat

Nama Ekstrak	Mikroba Uji									
	PA	VC	SE	SM	SD	BS	SA	ST	EC	
Teh Hijau	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
Jati Belanda	+	-	+	+	+	+	-	+	-	

Keterangan :

+ = Menghambat pertumbuhan mikroba uji

- = Tidak menghambat pertumbuhan mikroba uji

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Teh Hijau Dan Jati Belanda Secara Dilusi Padat Secara KLT-Bioautografi

Nilai Rf Ekstrak	Mikroba Uji		
	PA	SE	SD
Teh Hijau	-	0.02	0.81 0.73 0.49
Jati Belanda	0.49 0.02	-	-

Keterangan :

PA : *Pseudomonas aeruginosa*

SD : *Shigella disentry*

SE : *Staphylococcus epidermidis*

PEMBAHASAN

Sumber daya alam yang melimpah di Indonesia memicu peningkatan disektor penelitian sains yang sampai saat ini masih terus berlanjut. Sejak zaman nenek moyang dulu, telah digunakan tumbuh-tumbuhan sebagai ramuan obat dan sampai saat ini pula terus berkembang dengan adanya penelitian dan pengujian terhadap tumbuhan tertentu yang berkhasiat sebagai pengobatan, baik didalam maupun diluar negeri.

Sampel daun teh hijau dan jati belanda dikeringkan dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan metode ini karena struktur sampel yang lunak dan menjaga agar senyawa kimia dalam sampel tidak rusak oleh pemanasan, selain itu metode ini mudah, praktis, dan ekonomis. Penggunaan etanol 96% memiliki kandungan air yang sedikit sehingga menghindari rusaknya ekstrak dengan tumbuhnya jamur serta tidak memberikan efek toksik.

Bakteri uji yang digunakan dibuat dalam bentuk suspensi bakteri, diukur transmittannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 580 nm. Transmittan bakteri ialah 25% T karena ukuran bakteri yang kecil sehingga

lebih banyak yang terserap. Transmittan jamur ialah 75% T karena ukuran jamur yang besar maka yang akan terserap sedikit.

Medium yang digunakan ialah medium Glukosa Nutrient Agar (GNA), merupakan medium yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri dan jamur. Medium GNA digunakan pada dilusi padat untuk menumbuhkan mikroba uji. Bakteri dan jamur mudah tumbuh pada medium ini karena mengandung glukosa sebagai sumber karbohidrat dan pepton sebagai sumber protein.

Ekstraksi uji dilarutkan dengan DMSO (Dimetil sulfoksida) sebanyak 20 μ L, karena DMSO dapat melarutkan komponen kimia polar maupun non polar tanpa memberikan penghambatan terhadap beberapa bakteri uji serta ekstrak diharapkan terdispersi merata diseluruh medium untuk mendapatkan hasil yang homogen.

Pengujian skrining aktivitas antibakteri menggunakan 9 bakteri antara lain *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*. Menurut Brooks (2001)

pemilihan mikroba ini didasarkan pada sifat patogenik. *Staphylococcus epidermidis* merupakan penyebab infeksi alat kateter yang menyebabkan endokarditis serta infeksi kulit. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri anaerob Gram positif yang dapat menyebabkan karies pada gigi. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri kokus Gram positif yang bersifat patogenik penyebab infeksi kulit dan makanan. *Salmonella thypi* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri anaerob fakultatif, Gram negatif yang bersifat patogenik penyebab utama diare kronik, tifoid dan infeksi saluran kemih. *Vibrio cholerae* merupakan bakteri bentuk koma, aerob dan menghasilkan endotoksin, penyebab kolera. *Bacillus subtilis* bakteri batang besar, Gram positif, aerob yang tumbuh pada makanan dan menyebabkan keracunan pada makanan.

Pengujian skrining antibakteri dilakukan untuk mendapatkan ekstrak aktif yang dapat menghambat bakteri uji. Metode yang digunakan adalah metode dilusi padat dengan konsentrasi 1 mg/mL. penggunaan konsentrasi tersebut karena menurut Hoffman (1991) ekstrak dikatakan aktif jika pada konsentrasi 1 mg/mL menunjukkan hambatan pertumbuhan

bakteri dan jamur, maka ekstrak tersebut potensial untuk diteliti daya antibakterinya.

Pada hasil uji skrining aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak air teh hijau dan jati belanda pada konsentrasi 1 mg/mL menghambat semua bakteri uji *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella dysenteriae*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode KLT-Bioautografi, karena metode ini merupakan pengujian lanjutan bertujuan untuk mengetahui komponen kimia apa yang memberikan aktivitas antibakteri dari ekstrak air teh hijau dan jati belanda. Metode yang digunakan dalam KLT-Bioautografi ialah metode kontak, dengan menempelkan lempeng KLT pada medium yang telah disuspensikan dengan bakteri uji selama 60 menit. Dasar pemilihan metode ini, agar memudahkan dalam pengamatan identifikasi komponen kimia aktif, relatif aman bagi peneliti dan juga dapat memperkecil kesalahan yang mungkin terjadi dalam penelitian. Prinsip kerja dari metode ini

didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis.

Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri Bioautography-TLC menunjukkan bahwa ekstrak air teh hijau menggunakan eluen kloroform : metanol : air (20 : 10 : 1) diperoleh nilai Rf 0,02 aktif terhadap bakteri uji *Staphylococcus epidermidis*, Rf 0.81, 0.73, 0.49 aktif terhadap bakteri uji *Shigella disentry* dan ekstrak air jati belanda menggunakan eluen n-Heksan : etil asetat (7 : 1) diperoleh nilai Rf 0.49, 0.02 aktif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang ditandai dengan adanya zona bening pada permukaan medium tempat berdifusi bercak dari kromatogram yang dapat menghambat bakteri uji.

KESIMPULAN

Hasil skrining antimikroba pada konsentrasi 0,1% ekstrak air teh hijau dan jati belanda memberikan aktivitas terhadap bakteri uji *bakteri uji*. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri secara KLT-Bioautografi bahwa ekstrak air teh hijau diperoleh

nilai Rf 0,02 aktif terhadap bakteri uji *Staphylococcus epidermidis*, Rf 0.81, 0.73, 0.49 aktif terhadap bakteri uji *Shigella disentry* dan ekstrak air jati belanda diperoleh nilai Rf 0.49, 0.02 aktif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hertiani T. Uji Invitro Antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shyggella dysentriae* dan *Candida albicans* dari beberapa Tanaman Obat Tradisional untuk penyakit infeksi. Jurnal Farmasi Indonesia Pharmaccon 2003;4.
2. Wijayakusuma HM. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Pustaka Kartini, 1996.
3. Tobo F, Mufidah, Taebe B, Mahmud I. *Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia I*. Makassar : Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi, FMIPA. Universitas Hasanuddin, 2001.
4. Alam G, Adnan A, Makhmud AI, Djide MN. Analisis KLT-Bioautografi Senyawa Antibakteri Ekstrak Metanol Spons *Callyspongia* Sp. Majalah Obat Tradisional 2003;1-4.
5. Bibiana WL. *Analisa Mikroba Di Laboratorium*. Jakarta : PT. Raja Grafindo Persada, 1994.