

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSANA  
DAUN *Ploiarium alternifolium***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF N-HEXANE EXTRACTED OF *Ploiarium  
alternifolium* LEAF**

**Rudy Setyo Utomo\*, Muhamad Agus Wibowo\*\*, Andi Hairil Alimuddin\*\*, Arif  
Novrianto\*\***

\*Badan Litbang Provinsi Kalimantan Barat, Jl. Dr. Sutomo, No. 1, Pontianak, 78113

\*\*Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak, 78116

\*Correspondent author: rudystyo@gmail.com

**ABSTRAK**

Penelitian ini dilakukan untuk menemukan: karakteristik kimia dan kemampuan antibakteri senyawa yang diekstrak dengan n-heksana dalam daun *Ploiarium alternifolium*. Senyawa diperoleh dengan ekstraksi n-heksana dari daun *P. alternifolium* dan dimurnikan dengan kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom gravitasi (KKG) yang masing-masing dikarakterisasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Sifat-sifat antibakteri ditentukan dari fraksi-fraksi KCV melawan bakteri Gram-Positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram-Negatif *Shigella flexneri*. Karakterisasi kimia dilakukan dengan spektroskopi infra merah. Hasil penelitian didapatkan 7 fraksi KCV, yaitu A, B, C, D, E, F, dan G. Selanjutnya, fraksi D dimurnikan dengan KKG. Senyawa murni yang diperoleh dikarakterisasi dengan spektroskopi infra merah. Senyawa murni memiliki gugus ester, metil, metilen, metin, sikloheksana, dan alifatik rantai terbuka. Semua fraksi-fraksi hasil KCV menunjukkan sifat antibakteri terhadap *Shigella flexneri*, tetapi tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penghambatan pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* tertinggi oleh fraksi G (eluen etil asetat) dengan rasio diameter zona bening 106% dibanding diameter zona bening *clindamycin* (control positif). Fraksi D memiliki rasio diameter zona bening 79% hingga 87% dibanding diameter zona bening *clindamycin*.

**Kata kunci:** *Ploiarium alternifolium*, infra merah, antibakteri.

**ABSTRACT**

This study was conducted to find out: chemical characteristics and antibacterial capability of the compounds extracted with n-hexane in leaves of *Ploiarium alternifolium*. The compound was obtained by extraction of n-hexane from *P. alternifolium* leaf and purified by vacuum liquid chromatography (VLC) and gravitational column chromatography (GCC) and which each characterized by thin layer chromatography (TLC). The antibacterial properties were determined from KCV fractions against Gram-Positive *Staphylococcus aureus* and Gram-Negative *Shigella flexneri* bacteria. Chemical characterization was performed by infrared spectroscopy. The result of this research is 7 fraction of KCV, that is A, B, C, D, E, F, and G. Furthermore, fraction D is purified by GCC. The pure compounds obtained were characterized by infrared spectroscopy. The pure compound has ester, methyl, methylene, methyl, cyclohexane and open-chain aliphatic groups. All VLC yield fractions exhibit

antibacterial properties against *Shigella flexneri*, but do not inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. Inhibition of *Shigella flexneri* bacteria growth was highest by G (eluen ethyl acetate) fraction with a clear zone diameter ratio of 106% compared to clindamycin clear zone diameter (positive control). Fraction D has a clear-zone diameter ratio of 79% to 87% compared to the clindamycin clear zone diameter.

**Keywords:** *Ploiarium alternifolium*, infra red, antibacterial.

## 1. PENDAHULUAN

*Ploiarium alternifolium* (nama daerah Binger, Jonger (Wil de Jong, 2002; Ihalainen, 2007), atau Soma (Faskalia dan Wibowo, 2014)) merupakan tumbuhan *indigenous* Kalimantan Barat memiliki beberapa kegunaan. Jonger biasa tumbuh pada hutan rawa, lahan kering, dan gambut. Daun Jonger biasa digunakan oleh masyarakat sebagai bahan pangan (Setyowati *et al.*, 2005; Subro, 2015), obat diare (Wardani, 2008), dan sampo (Silvia *et al.*, 2015). Batang yang berukuran kecil hingga sedang biasa digunakan untuk bahan bangunan rumah dan pagar.

Beberapa peneliti sebelumnya telah mempelajari kandungan kimia bagian tumbuhan *P alternifolium*. Faskalia dan Wibowo (2014) melaporkan serbuk daun yang diekstrak dengan metanol mengandung steroid. Silvia *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa fraksi etil asetat dari daun *Ploiarium alternifolium* mengandung steroid selain alkaloid, flavonoid, polifenol dan saponin. Demikian juga fraksi n-heksana daun soma tersebut mengandung steroid selain polifenol dan flavonoid.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana memiliki aktivitas antibakteri. Hasil ekstraksi *Hylocereus polyrhizus* (*red flesh pitaya*) dan *Hylocereus undatus* (*white flesh pitaya*) menunjukkan efek zona penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Klebsiella pneumonia* (Nurmahani, *et al.*, 2012). Prokathagomol, *et al.* (2012) ekstraksi *Alpinia galanga* menghambat *Staphylococcus aureus*. Ekstrak *sea urchin Temnopleurus alexandri* bersifat antibakteri terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter faecalis*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Proteus vulgaris*). Bagaimana dengan ekstraksi non polar daun *P. alternifolium*?

Beberapa kelompok masyarakat menyatakan bahwa daun *P alternifolium* memiliki manfaat sebagai obat diare (Wardani, 2008). Daun *P alternifolium* sebagai obat diare baru dinyatakan sebagai pengetahuan tradisional. Penelitian ini

mengungkapkan apakah senyawa kimia yang terdapat dalam daun *P. alternifolium* memiliki kemampuan sebagai antibakteri, khususnya melawan bakteri penyebab diare, yaitu bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Shigella flexneri*. *Staphylococcus aureus* juga diketahui resisten terhadap beberapa macam obat (McDougall *et al.*, 2005; Akhabue *et al.*, 2011; Viedma *et al.*, 2012).

Karakterisasi kimia spektroskopi infra merah untuk mengetahui keberadaan gugus-gugus kimia dalam senyawa. Dengan karakterisasi akan dilihat hubungan antara gugus fungsi didalam ekstrak n-heksana daun *P. alternifolium* dengan sifat-sifat antibakteri.

Yang menjadi masalah utama penelitian ini adalah: bagaimana aktivitas antibakteri senyawa dalam daun *P. alternifolium* terhadap bakteri Gram-Positif dan bakteri Gram-Negatif? Dengan demikian maka tujuan penelitian adalah menemukan sifat antibakteri senyawa hasil ekstrak n-heksana daun *P. alternifolium* terhadap bakteri Gram-Positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram-Negatif *Shigella flexneri*.

## 2. METODE

Penelitian dilaksanakan pada tahun 2017. Sampel berupa daun *Ploiarium alternifolium* dipetik dari Desa Sejegi, Kecamatan Mempawah Timur, Kabupaten Mempawah, Provinsi Kalimantan Barat. Isolasi dan pemurnian senyawa dilakukan pada Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Analisis spektroskopi infra merah dilakukan di Laboratorium Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya, Jawa Timur. Uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak (FMIPA UNTAN).

Bahan-bahan yang digunakan diantaranya adalah daun *Ploiarium alternifolium*, n-heksana, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat; asetat anhidrat, silika gel GF-254, stok bakteri *Shigella flexneri* dan *Staphylococcus aureus* dari stok di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura – Pontianak, Kalimantan Barat. Alat-alat yang digunakan antara lain: cawan petri, Gelas beker, gelas ukur, *hotplate* dan *heat mantel*, kertas saring, labu ukur, lampu UV, mesin pencacah penghancur daun, pipet mikro, *rotary vacuum evaporator*, seperangkat alat KKG, KCV, lembaran KLT, dan seperangkat alat spektrofotometer Inframerah Shimadzu.

Identifikasi Tumbuhan telah dilakukan sebelumnya oleh Mukarlina (2013) di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam-Universitas Tanjungpura, Pontianak. Berat daun segar adalah 18 kg. Setelah kering angin, digiling dengan mesin penggiling menjadi bubuk/debu di Laboratorium Teknik Industri, Fakultas Teknik, Univ. Tanjungpura, Pontianak.

### **Ekstraksi daun**

Serbuk daun diekstraksi dengan n-heksana dengan Aparatus soklet. Aparatus soklet didipanaskan dengan *mantel heat*. Hasil ekstraksi berwarna hijau kekuningan. Filtrat hasil sokletasi diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak dan hasilnya ditimbang.

### **Pemurnian senyawa steroid**

Untuk mengetahui eluen terbaik untuk elusi dalam fraksinasi KCV dilakukan uji KLT. Gradient campuran eluen n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan n-heksana:etil asetat: (0:10), (1:9); (2:8); (3:7); (4:6); (5:5); (6:4); (7:3); (8:2); (9:1) dan (10:0).

Pola pemisahan noda terbaik KLT digunakan sebagai eluen dalam fraksinasi KCV. Hasil fraksinasi KCV diuji kembali dengan KLT. Fraksi hasil KCV yang menunjukkan pola pemisahan noda terbaik pada pelat KLT digunakan untuk fraksinasi KKG. Hasil fraksi KKG diuji dengan pelat KLT. Fraksi yang menunjukkan noda tunggal pada pelat KLT dianggap sebagai senyawa murni. Selanjutnya fraksi yang menunjukkan noda tunggal dikarakterisasi dengan spektroskopi infra merah.

Untuk memastikan bahwa ekstrak kental mengandung senyawa terpenoid atau steroid dilakukan skrining fitokimia dengan uji *Liebermann-Burchard* (Uji LB). Uji Liebermann-Burchard (LB) dilakukan dengan meneteskan setetes ekstrak kental dengan pipet kaca pada cawan porselin, kemudian diberi asam sulfat pekat dan asam asetat anhidrat (Pradnya dan Alka, 2014).

### **KCV**

Proses pemisahan KCV dilakukan dengan metode SGP (*Step Gradient Polarity*), yaitu pelarut ditingkatkan kepolarannya secara bertahap dalam berbagai perbandingan (Suryani, 2011), menggunakan campuran pelarut n-heksana dan etil asetat. Fase diam pada KCV adalah silika gel GF-254. Hasil fraksinasi menggunakan KCV diuji dengan KLT.

## **KKG**

Fase gerak/eluen pada KKG digunakan campuran etil asetat dan *n*-heksana pada beberapa perbandingan. Eluen yang digunakan adalah *n*-heksana, campuran *n*-heksana-etil asetat, etil asetat secara bergradien berdasarkan naiknya kepolaran. Senyawa hasil isolasi yang telah sempurna dikristalkan menggunakan pelarut *n*-heksana. Fase diam pada KKG adalah silika gel GF-254.

## **Uji Spektroskopi Fourier Transform Infra Red (FTIR)**

Melakukan pengukuran spektrum IR untuk mengetahui adanya gugus fungsi seperti CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, atom karbonil/keton (-C=O), hidroksil/alkohol -OH, karboksilat (-COOH), fenol, dan ester (-COO-) dengan menentukan posisi puncak spektrum sinar infra merah (cm<sup>-1</sup>).

## **Uji aktivitas antibakteri**

Tahapan persiapan meliputi peremajaan bakteri, pembuatan suspensi bakteri, pembuatan cakram kertas, persiapan kontrol negatif, persiapan kontrol positif, dan pembuatan konsentrasi bahan aktif 200 mg/mL. Bakteri yang digunakan *Stapilococcus aureus* dan *Shigella flexneri*, diperoleh dari stok di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Tanjungpura-Pontianak. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar Kirby-Bauer, ditumbuhkan dalam media Mueller Hinton Agar steril. Ketebalan media dalam cawan petri ±0,5 cm (Ningsih *et al.*, 2013). Prosedur inokulasi mengikuti cara Pasaribu *et al.* (20013) dan Ningsih *et al.* (2013).

Bahan aktif antibakteri berasal dari fraksi KCV, dilarutkan dalam Twin-80 ditambahkan aquadest steril. Cakram adalah kertas saring diameter 6 mm (Wahdaningsih *et al.*, 2014) ditempatkan direndam dalam larutan bahan aktif (20 µL), diangkat dan diletakkan di atas permukaan media. Kontrol positif adalah *Clindamycin* 4 µg/disk (Wahdaningsih *et al.*, 2014), kontrol negatif adalah Twin-80 10% (Jannah, *et al.*, 2013). Uji setiap fraksi KCV diulang 3 kali.

Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator selama 24 jam (Ningsih *et al.*, 2013; Jannah, *et al.*, 2013) kemudian diamati zona hambat yang terbentuk yang diinterpretasikan dengan daerah bening di sekitar cakram.

### 3. HASIL-HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi menunjukkan kedudukan tumbuhan dalam Taxonomy Tumbuhan adalah: Super Divisi: *Spermatophyta*; Divisi: *Magnoliophyta*; Kelas: *Magnoliopsida (dicots)*; Ordo: *Ericales*; Famili: *Theaceae*; Genus: *Ploiarium*; Spesies: *Ploiarium alternifolium* Melch (Faskalia dan Wibowo, 2014).

Warna hasil ekstraksi hijau gelap kekuningan atau hijau pekat kekuningan dan warna ekstrak kental hijau gelap. Dari berat serbuk daun kering seberat 1 kg dihasilkan ekstrak seberat 10 gram atau 1% dari berat kering angin serbuk daun *P alternifolium*.

Warna larutan ekstrak setelah diberi asam sulfat pekat dan asetat anhidrat, pertama biru-ungu dan berubah menjadi hijau yang menunjukkan keberadaan senyawa terpenoid atau steroid (Arora dan Kalia, 2013).

#### Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil uji KLT terhadap ekstrak kasar daun *P alternifolium* diperoleh pola partisi yang kuat pada campuran eluen B, C dan D. Hasil pemisahan noda dari campuran eluen-eluen terbaik adalah eluen D. Nilai Rf yang terbentuk diperlihatkan dalam Tabel 1. Noda pada eluen B terpisah 3 noda, pada eluen C terpisah 5 noda, dan pada eluen D terpisah 7 noda. Merujuk hasil analisis KLT oleh Muharram dan Jannah (2009) terhadap ekstrak n-heksana daun meniran, diperoleh campuran eluen heksana : etilasetat = 8 : 2 maka fraksi C dan fraksi D mengandung steroid pada nilai Rf 0,83 pada fraksi C dan nilai Rf 0,77 dan nilai Rf 0,87 pada fraksi D. Sedang, hasil analisis Jannah *et al* (2013) terhadap daun buncis menunjukkan harga nilai Rf stigmasterol adalah 0,9 dengan demikian maka boleh jadi nilai Rf 0,92 pada fraksi C dan nilai Rf 0,94 pada fraksi D adalah steroid. Menurut Djadjattisnadjaja *et al.* (2006), nilai Rf standar beta-sitosterol adalah 0,65.

Tabel 1 Nilai Rf noda (ekstrak n-heksana) di plat KLT pada masing-masing kombinasi pelarut

No	Jarak tempuh (cm)		Rf	No	Jarak tempuh (cm)		Rf	
	noda	Eluen			noda	Eluen		
<b>A</b>	0	4,5	0,00	<b>D</b>	1,7	4,5	0,38	
	<b>B</b>	0,6	4,5		0,13	2,0	4,5	0,45
		1,2	4,5		0,27	2,4	4,5	0,54
<b>C</b>	2,1	4,5	0,47		2,6	4,5	0,58	
	2,6	4,5	0,57		3,5	4,5	0,77	
	2,9	4,5	0,63		3,9	4,5	0,87	
	3,7	4,5	0,83		4,2	4,5	0,94	

4,1	4,5	0,92	E	4,2	4,5	0,94
4,4	4,5	0,99	F	4,3	4,5	0,96
			G	4,2	4,5	0,94
			H	4,2	4,5	0,93
			I	4,3	4,5	0,96
			J	4,5	4,5	1,00
			K	4,2	4,5	0,93

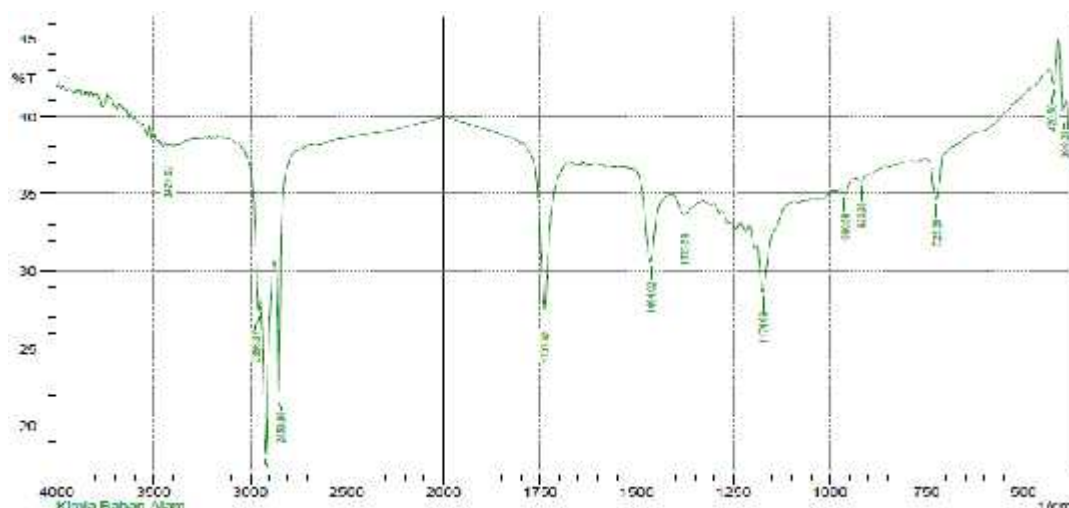
### Uji Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Fraksinasi KCV menggunakan eluen mengacu pada hasil uji KLT (dari Tabel 1), sehingga eluen adalah campuran n-heksana dan etil asetat dalam perbandingan: A (100 : 0) (n-heksana murni); B (90 : 10); C (80 : 20); D (60 : 40); E (50 : 50); F (30 : 70); dan G (0 : 100) (etil asetat murni). Fraksi D memiliki daya pisah lebih tinggi dibanding fraksi A, B, C, E, F, G, H, dan I. Dengan alasan ini maka dipilih fraksi D untuk pemurnian.

Dalam KKG digunakan fraksi D KCV dan eluen campuran n-heksana dan etil asetat pada perbandingan (100:0); (80:20); (70:30); dan (60:40). Masing-masing fraksi KKG dalam botol vial diuji kembali dengan KLT. Noda tunggal ditemukan pada fraksi (botol vial) ke 40. Noda fraksi ke 40 tampak berwarna hijau, sehingga senyawa murni ini dikarakterisasi dengan spektroskopi infra merah.

### Spektroskopi infra merah

Hasil spektroskopi sinar infra merah diperlihatkan pada Gambar 1. Puncak-puncak (*peaks*) spektroskopi infra merah daun *P. alternifolium* fraksi KKG dalam botol vial ke 40, diperlihatkan dalam Tabel 2. Terdapat 10 puncak yang dapat dimaknai dalam spektroskopi tersebut. (1) Pada puncak  $2956,97\text{ cm}^{-1}$  adalah metil ( $-\text{CH}_3$ ) (Coates, 2000), struktur alifatik (Derrick *et al.*, 1999), alkana (Derrick *et al.*, 1999; Coates, 2000). (2) Pada puncak  $2918,40\text{ cm}^{-1}$  merupakan gugus metilena ( $-\text{CH}_2-$ ) (Coates, 2000), ikatan tunggal alkana dan susunan alifatik (Coates, 2000; Derrick *et al.*, 1999), (3) Puncak  $2850,88\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus metilena ( $-\text{CH}_2-$ ) (Coates, 2000) atau metin, metoksi ( $-\text{C}-\text{O}-$ ), atau metil eter ( $\text{CH}_3-\text{O}-$ ), dengan jenis ikatan alkana (ikatan tunggal/jenuh) (Pretsch, *et al.*, 2000; Derrick *et al.*, 1999).



Gambar 1. Spektrum infra merah dari fraksi KKG pada botol vial ke 40.

Tabel 2. Spektroskopi infra merah ekstrak n-heksana daun *Ploiarium alternifolium*

No	Puncak (cm <sup>-1</sup> )	Senyawa	Referensi
1.	725,26	Rangkaian metilena (- CH <sub>2</sub> -) <sub>n</sub> , (n ≥ 3);	Coates, 2000
2.	920,08	Metin (>CH-), alkane. Cincin sikloheksana; Metilena (- CH <sub>2</sub> -), Metin (> CH -), vibrasi kerangka (skeletal)	Coates, 2000
3.	960,58	Metin (> CH -), trans, Alkena.	Coates, 2000
4.	1174,69	C – C, vibrasi kerangka; Metin (> CH -), vibrasi kerangka (skeletal); C-O dalam ester	Coates, 2000; Derrick, <i>et al.</i> , 1999
5.	1375,29	Metil (- CH <sub>3</sub> )	Coates, 2000; Derrick, <i>et al.</i> , 1999
6.	1464,02	Metil (- CH <sub>3</sub> ), Metilena (- CH <sub>2</sub> -).	Coates, 2000; Derrick, <i>et al.</i> , 1999
7.	1737,92	Ester (- COO -), alifatik	Coates, 2000; Derrick <i>et al.</i> , 1999; Pretsch <i>et al.</i> , 2009.
8.	2.850,88	Metilena (>CH <sub>2</sub> ), <b>atau</b> Frekuensi metin khusus, metoksi, metil eter O – CH <sub>3</sub> , alkane, Alifatik	Coates, 2000; Derrick, <i>et al.</i> , 1999;
9.	2.918,40	Metilena (>CH <sub>2</sub> ), alkana; Alifatik	Coates, 2000; Derrick <i>et al.</i> , 1999
10.	2.956,97	Metil (- CH <sub>3</sub> ), alkane, Alifatik	Coates, 2000 Derrick <i>et al.</i> , 1999

(4) Pada puncak 1737,92 cm<sup>-1</sup> sebagai gugus ester (RCOOR') (Coates, 2000; Pretsch *et al.*, 2009). Gugus ester ini terletak pada rantai senyawa alifatik (Derrick *et al.*, 1999), (5) Pada puncak 1464,02 cm<sup>-1</sup> menunjukkan senyawa metil (Coates,



2000) atau metilena (Derrick *et al.*, 1999), (6) Puncak  $1375,29\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan gugus metil (Coates, 2000; Derrick *et al.*, 1999), (7) Puncak  $1174,69\text{ cm}^{-1}$  adalah ikatan getaran antara atom Carbon C dengan C ( $-C-C-$ ) atau metin ( $>CH-$ ) (Coates, 1999) atau ikatan atom C dan O ( $C-O$ , etoksi) dari gugus ester (Derrick *et al.*, 1999), (8) Puncak infra merah pada  $960,58\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan senyawa metin ( $>CH-$ ) pada posisi trans (Coates, 2000) dengan jenis ikatan alkena ( $-C=C-$ ) (Coates, 2000), (9) Puncak pada posisi  $920\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi cincin sikloheksana dari senyawa metilena ( $-CH_2-$ ) atau metilena atau metin ( $>CH-$ ) pada kerangka rantai senyawa (Coates, 2000), (10) Puncak  $725\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan senyawa metilena pada rantai senyawa panjang dengan jumlah senyawa  $CH_2$  paling sedikit 3 atau lebih atau adanya senyawa metin ( $>CH-$ ) (Coates, 2000).

Gugus heteroatom terdapat pada peak  $1738\text{ cm}^{-1}$  merupakan gugus ester ( $-COO-$ ) dalam rangkaian senyawa karbon alifatik (Coates, 2000; Derrick *et al.*, 1999; Pretsch *et al.*, 2000). Keberadaan gugus ester didukung dengan peak  $1175\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan gugus C-O dalam ester (Coates, 2000; Derrick *et al.*, 1999). Selanjutnya, kemungkinan ikatan C-O dalam ester terhubung dengan metil ( $O-CH_3$ ) yang ditunjukkan pada peak  $2851\text{ cm}^{-1}$  (Derrick *et al.*, 1999).

### Aktivitas antibakteri

Hasil uji antibakteri ekstrak n-heksana daun *Ploiarium alternifolium* diperlihatkan dalam Tabel 3. Data pengukuran zona bening akibat penghambatan fraksi KCV, kontrol negatif dan control positif terhadap bakteri *Shigella flexneri* diperlihatkan dalam Gambar 2 dan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* disertakan dalam Gambar 3.

Pada waktu inkubasi 24 jam, semua diameter zona bening semua perlakuan fraksi A, B, C, D, E, dan F dari fraksi hasil KVC masih lebih sempit dibanding diameter zona penghambatan kontrol positif, kecuali fraksi G. Rasio zona bening fraksi G terhadap kontrol positif tertinggi yaitu 1,06 atau 106%. Diantara fraksi-fraksi tersebut, fraksi G merupakan fraksi yang paling polar (perbandingan eluen n-heksana : etil asetat = 0 : 100).

Fraksi D memiliki rasio zona bening 0,79 atau 79% terhadap kontrol positif melawan *Shigella flexneri*. Semua fraksi yang diperoleh dari fraksinasi KVC menunjukkan rasio zona bening lebih dari 50% terhadap bakteri *Shigella flexneri* disbanding kontrol positif. Dengan demikian ekstrak n-heksana berpengaruh positif

menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* dengan aktivitas penghambatan dengan rasio zona bening setiap fraksi terhadap kontrol positif sebesar antara 0,52 (52%) hingga 1,06 (106%).

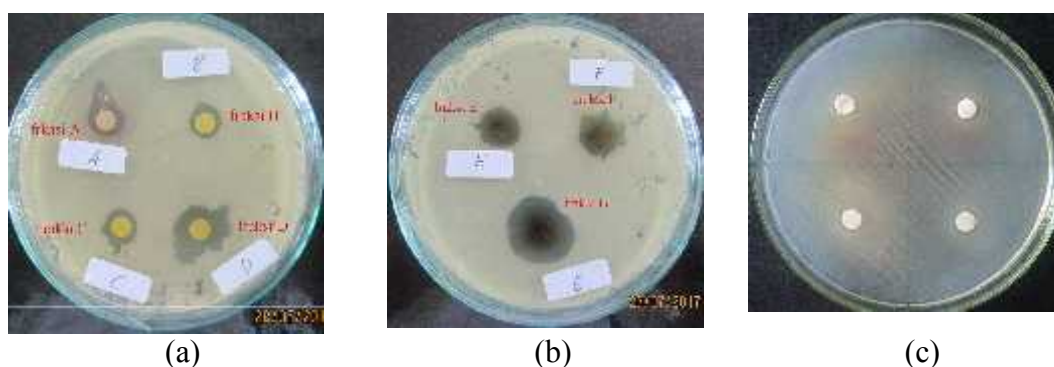
Pada waktu inkubasi 48 jam, dari data di Tabel 3 terlihat bahwa penghambatan setiap fraksi hasil KCV relatif tetap disbanding data inkubasi 24 jam. Fakta ini mengindikasikan kemungkinan setiap fraksi hasil KCV bersifat bakteriosida terhadap bakteri *Shigella flexneri*.

Tabel 3 Zona bening (aktivitas antibakteri) fraksi-fraksi kromatografi vakum cair ekstrak n-heksana daun *Ploiarium alternifolium*

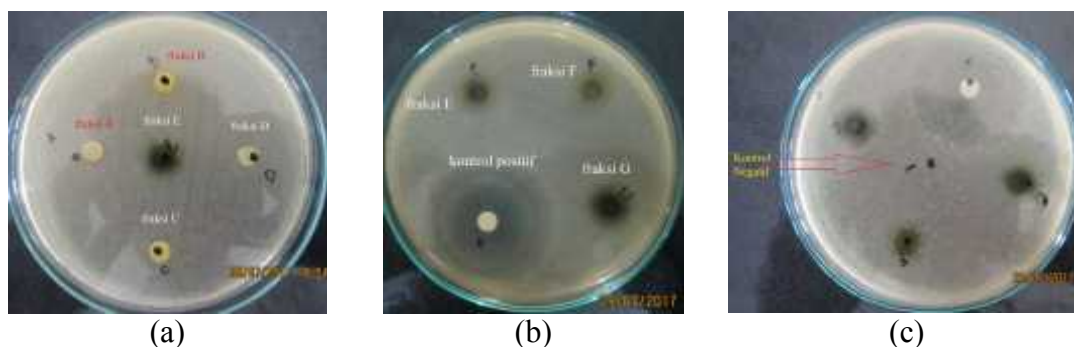
No	Perlakuan	<i>Shigella flexneri</i>				<i>Staphylococcus aureus</i>			
		24 jam		48 jam		24 jam		48 jam	
		Rata-rata diameter zona bening (mm)							
		mm	rasio	mm	rasio	mm	rasio	mm	rasio
1.	Kontrol -	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	Kontrol +	20,40	-	20,47	-	32,08	-	38,94	-
3.	Fraksi A	12,19	0,60	11,98	0,59	7,21	0,22	-	-
4.	Fraksi B	11,94	0,59	11,30	0,55	7,48	0,23	-	-
5.	Fraksi C	10,67	0,52	11,35	0,55	7,92	0,25	-	-
6.	Fraksi D	16,13	0,79	17,71	0,87	7,69	0,24	-	-
7.	Fraksi E	12,37	0,61	12,58	0,61	8,97	0,28	8,33	0,21
8.	Fraksi F	13,77	0,68	13,86	0,68	9,32	0,29	-	-
9.	Fraksi G	21,69	1,06	19,22	0,94	12,18	0,38	-	-

Keterangan:

Angka diameter zona bening merupakan rata-rata dari 3 ulangan perlakuan. Setiap perlakuan dilakukan 3 kali pengukuran untuk menentukan angka rata-rata diameter dalam satu zona bening.



Gambar 2 Zona bening pertumbuhan *Shigella flexneri* dari pengaruh fraksi-fraksi KCV pada waktu inkubasi 24 jam, (a) fraksi A, B, C dan D; (b) fraksi E, F, dan G; (c) kontrol negatif



Gambar 3 Pengaruh fraksi-fraksi KCV terhadap *Staphylococcus aureus* pada waktu inkubasi 24 jam, (a) fraksi-fraksi A, B, C, D dan E, (b) fraksi-fraksi E, F, G dan control positif, (c) control negatif

Bahkan pada fraksi D pada waktu inkubasi 48 jam menunjukkan penambahan diameter zona bening menjadi 0,87 atau 87% dari pada waktu inkubasi 24 jam (0,79 atau 79%).

Sebaliknya, kemampuan fraksi-fraksi KCV ekstrak n-heksana terhadap penghambatan *Staphylococcus aureus* lebih rendah dibanding penghambatan *Shigella flexneri*. Hanya fraksi E yang menunjukkan zona bening terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, pada rasio sebesar 0,21 atau 21% terhadap kontrol positif. Dari fakta ini dapat dinyatakan bahwa ekstrak n-heksana daun *Ploiarium alternifolium* tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kemampuan antibakteri dari ekstrak daun diduga karena pengaruh merusakannya senyawa lipofilik dari fraksi terhadap porin pada dinding sel bakteri (Haryati, *et al.*, 2015). Porins merupakan protein pada dinding sel bakteri yang menghasilkan pori-pori atau saluran tidak spesifik yang memungkinkan molekul hidrofilik kecil melintasi membran luar (Nikaido dan Vaara, 1985). Senyawa lipofilik bereaksi dengan porin pada membrane luar dinding sel bakteri membentuk polimer dan mengurangi permeabilitas dinding sel sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, selanjutnya pertumbuhan terhambat dan mati (Haryati, *et al.*, 2015).

Kemampuan bakterisida steroid atau terpenoid berhubungan dengan struktur kimia gugus beroksigen pada C-3. Gugus tersebut antara lain hidroksil, karbonil, glikosinat, ester (terutama asetil), atau hidroksiamina. Aktivitas meningkat untuk triterpena yang mengandung gugus hidroksil bebas pada C-3, terutama pada sisi beta. Aktivitas biasanya menurun bila posisi C-3 merupakan turunan ester (Abreu *et al.*, 2011). Dalam senyawa ini, senyawa rantai samping pada sisi C3 diduga adalah turunan ester, dengan demikian turunan ester pada sisi atom C nomor 3 ini yang diduga memiliki kemampuan antibakteri.

Disamping itu, dinyatakan oleh Hichri *et al.* (2003), konversi gugus karboksil pada C-17 dan pada sisi beta C-13 meningkatkan aktivitas bakterisida. Pada atom C nomor 17 dalam senyawa yang diteliti kemungkinan rantai sisi yang mengandung ester. Diduga reaktivitasnya terdapat pada atom O yang terikat di atom C karbonil. Bentuk senyawa ester ini dapat berupa lakton atau bufanolida. Kamboj *et al* (2013) menyebutkan, tanaman yang mengandung bufadienolida banyak digunakan untuk pengobatan tradisional infeksi.

Semua data dari Tabel 3 menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan bakteri ekstrak n-heksana umumnya masih lebih rendah dari pada kemampuan penghambatan antibiotika *Clindamycin*, hanya pada fraksi G hasil fraksinasi KCV yang menunjukkan kemampuan penghambatan lebih baik dari *Clindamycin*.

#### 4. SIMPULAN

Dari hasil analisis, pembahasan dan interpretasinya maka dapat disimpulkan bahwa: ekstrak n-heksana daun *Ploiarium alternifolium* ditemukan mengandung senyawa yang memiliki gugus ester yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* tetapi tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pemerintah Provinsi Kalimantan Barat yang telah memberi bantuan kegiatan penelitian dan Universitas Tanjungpura Pontianak khususnya dosen/pengajar Program Studi Magister Kimia dan pengelola Laboratorium Kimia dan pengelola Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang membantu pelaksanaan penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

Abreu, V.G.C.; Takahashi, J.A.; Duarte, L.P.; Piló-Veloso, D.; Junior, P.A.S., Alves, R.O.; Romanha, A.J.; Alcântara, A.F. C. (2011). Evaluation of the Bactericidal and Trypanocidal Activities of Triterpenes Isolated from the Leaves, Stems, and Flowers of *Lychnophora pinaster*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21(4), 615-621.

- Akhabue, E., Marie Synnestvedt, Mark G. Weiner, Warren B. Bilker and Ebbing Lautenbach, 2011, Cefepime-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Emerging Infectious Diseases*, 17(6), 1037-1043.
- Arora, M., and A. N. Kalia, 2013, Isolation and characterization of stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol-D-glycoside from ethanolic extract of the stems of *Salvadora persica* Linn., *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutica*.
- Coates, J., 2000, *Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach, Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R.A. Meyers (Ed.), John Wiley & Sons Ltd, Chichester, USA: pp. 10815–10837.
- Derrick, M.R., Dusan Stulik and James M. Landry, 1999, *Infrared Spectroscopy in Conservation Science Scientific Tools for Conservation*, The Getty Conservation Institute, Los Angeles.
- Djadjattisnadjaja, Suci Lestari Hidayat, Sukma Sumirja dan Partomuan Simanjuntak, 2006, Pengkajian Kandungan Fitosterol pada Tanaman Kedawung (*Parkia roxburgii* G. Don.), *Biodiversitas*, 7(1): 21-24.
- Faskalia dan Muhamad Agus Wibowo, 2014, Skrining fitokimia, uji aktivitas, antioksidan dan uji sitotoksik ekstrak methanol pada akar dan kulit batang Soma (*Ploiarium alternifolium*), *JKK*, 3(3), 1- 6.
- Haryati, N.A., Chairul Saleh dan Erwin, 2015, Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1), 35-40.
- Hichri, F.; Ben Jannet, H.; Cheriaa, J.; Jegham, S.; Mighri, Z. (2003). Antibacterial activities of a few prepared derivatives of oleanolic acid and of other natural triterpenic compounds. *Comptes Rendus Chimie*, Vol. 6, pp. 473-483.
- Ihalainen, L., 2007, Improved rubber agroforestry system RAS1 in West Kalimantan, Indonesia Biodiversity and Farmers Perceptions, *Thesis*, Department of Forest Ecology, University of Helsinki.
- Jannah, H., I Made Sudarma dan Yayuk Andayani, 2013, Analisis senyawa fitosterol dalam ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.), *Chem. Prog.*, 6(2): 70-75.

- Kamboj, A., Aarti Rathour, Mandeep Kaur, 2013, Bufadienolides and Their Medicinal Utility: A Review, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 20-27.
- MacDougall, C., Spencer E. Harpe, J. Patrick Powell, Christopher K. Johnson, Michael B. Edmond and Ron E. Polk, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and Fluoroquinolone Use, *Emerging Infectious Diseases*, 11(8), 1197-1204.
- Muharram dan Nur Jannah B., 2009, Isolasi dan Identifikasi Sterol dari Ekstrak n-heksana Daun Meniran Hijau *Phyllanthus niruri* L., *Bionature*, 10 (2), 50 – 55.
- Mukarlina, 2013, Hasil Determinasi Tumbuhan pada surat nomor 105/A/LB/FMIPA/UNTAN/2013, tanggal 29 November 2013, atas permintaan Faskalia, Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Nikaido, H., and Marti Vaara, 1985, Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability, *Microbiological Reviews*, *American Society for Microbiology*, Mar. 1985, 1-32.
- Ningsih, A.P., Nurmiati dan Anthoni Agustien, 2013, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.)*, 2(3), 207-213.
- Nurmahani, M.M., Osman, A., Abdul Hamid, A., Mohamad Ghazali, F., and Pak Dek, M.S., 2012, Antibacterial property of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* peel extracts, *International Food Research Journal*, 19(1): 77-84.
- Pasaribu, S.P., Wahidatul Nuriah dan Erwin, 20013, Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri berbagai fraksi ekstrak daun tanaman Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.), *Jurnal Kimia Mulawarman*, 10(2): 94-99.
- Pretsch, E., P. Buhlmann and C. Affolter, 2000, *Structure Determination of Organic Compounds – Tables of Spectral Data*, Springer, Berlin.
- Prokaththagomol, W., Jakkapan Sirithunyalug and Siriporn Okonogi, 2012, Comparison of antibacterial activity against food-borne bacteria of *Alpinia galangal*, *Curcuma longa*, and *Zingiber cassumunar*, *CMU.J.Nat.Sci*, 11(2), 177-186.

- Setyowati, F.M., Soedarsono Riswan dan Siti Susiati, 2005, Etnobotani masyarakat Dayak Ngaju di daerah Timpah Kalimantan Tengah, *J. Tek. Ling. P3TL-BPPT*, 6(3), 502-510.
- Silvia, Savante Arreneuz, dan Muhamad Agus Wibowo, 2015, Aktivitas antimikroba ekstrak daun soma (*Ploiarium alternifolium* Melch) terhadap Jamur *Malassezia furfur* dan bakteri *Staphylococcus aureus*, *JKK*, 4(3): 84-93.
- Subro, I.L., 2015, *Populasi dan potensi Ploiarium alternifolium (Theaceae) di hutan gambut pasca terbakar Kalampangan, Kalimantan Tengah*, Pros Sem Nas Masy Biodivindon, 1(4), Juli 2015: 727-731.
- Viedma, E., Carlos Juan, Jennifer Villa, Laura Barrado, M. Ángeles Orellana, Francisca Sanz, Joaquín R. Otero, Antonio Oliver, and Fernando Chaves, 2012, VIM-2–producing Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST175 Clone Spain, *Emerging Infectious Diseases*, 18(8), 1235-1241.
- Wahdaningsih, S., Eka Kartika Untari dan Yunita Fauziah, 2014, Antibakteri Fraksi *n*-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*, *Pharm Sci Res.*, 1(3): 181-193.
- Wardani, M., 2008, Keragaman potensi tumbuhan berguna di Cagar Alam Mandor, Kalimantan Barat, *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 5(3), 251-266.
- Wil de Jong, 2002, *Forest products and local forest management in West Kalimantan, Indonesia: implication for conservation and development*, *Tropenbos-Kalimantan Series 6*, Tropenbos International, Wageningen, the Netherlands.