

UJI DAYA HAMBAT FRAKSI N-HEKSAN, KLOOROFORM, DAN ETANOL EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* (Wild.) Presl.) TERHADAP BAKTERI *Shigella sonnei*

Muthi'ah Rabbaniyyah¹, Solikah Ana Estikomah², Lija Oktya Artanti²

¹Mahasiswa Program Studi Farmasi UNIDA Gontor

²Staf Pengajar Program Studi Farmasi UNIDA GONTOR
Pondok Modern Gontor Putri 1 Mantingan, Ngawi 63257 INDONESIA
muthiahrabbaniyah@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri *Shigella sonnei* (golongan *Shigella* sp) merupakan bakteri patogen penyebab penyakit disentri basiler (shigellosis). Penyakit infeksi saluran pencernaan umumnya diobati antibiotik, tetapi seiring berjalannya waktu resistensi terhadap antibiotik sintesis ditemukan. Hal ini membuat pencarian bahan alam dengan efek antibakteri sebagai alternatif mulai dikembangkan. Salah satu bahan alam yang memiliki senyawa metabolit sekunder dengan efek antibakteri adalah daun kitolod (*Isotoma longiflora* (Wild.) Presl.). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi etanol ekstrak daun kitolod terhadap bakteri *Shigella sonnei*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, dan selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etanol, kloroform, dan n-heksan dengan konsentrasi 10% v/v, 20% v/v, 30% v/v, dan 40% v/v. Pengujian daya hambat dilakukan dengan metode difusi sumuran pada media MHA, serta diukur zona hambat yang terbentuk. Skrining senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode KLT. Hasil penelitian diketahui bahwa seluruh fraksi dari ekstrak daun kitolod memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella sonnei*, sedangkan fraksi teraktif didapatkan dari fraksi etanol konsentrasi 40% v/v dengan zona hambat tertinggi sebesar 20,50 mm. Uji skrining menyatakan ekstrak daun kitolod mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid.

Kata Kunci: *Shigella sonnei*, fraksi, daun kitolod, dan daya hambat.

ABSTRACT

Shigella sonnei bacteria is pathogenic bacteria which causes dysentery (shigellosis) Basilar. Digestive tract infections are generally given the antibiotic, but over time resistance to antibiotic synthesis is found. Than the search of natural materials as an alternative begins to be developed. One of the natural materials that supposedly has antibacterial effect is kitolod leaves (*Isotoma longiflora* (Wild.) Presl.). The purpose of this research is to determine the antibacterial activity of the n-hexane fraction, the fraction of chloroform, ethanol fraction and kitolod leaf extract against bacteria *Shigella sonnei*. The extraction was done by the maceration using solvent ethanol 96% and subsequently conducted fractionation with liquid extraction, method using ethanol, chloroform, and n-hexane as solvents with a concentration of 10% v/v, 20% v/v, 30% v/v, and 40% v/v. Antibacterial power testing was performed using the methods of diffusion holes on medium, as well as measured drag zone formed around the hole. Screening compounds performed by TLC method. The results of the research that the fraction of kitolod leaf extract has potential in inhibiting the growth of bacteria *Shigella sonnei*, the most active fraction obtained from ethanol fraction with a concentration of 40% v/v with the highest inhibition zone of 20.50 mm. The screening test showed that kitolod leaf extract contains alkaloids, flavonoids, saponins, and steroids.

Keywords: *Shigella sonnei*, fractions, leaves kitolod, and potential inhibiting.

1. Pendahuluan

Infeksi saluran cerna merupakan gangguan yang sering terjadi pada masyarakat karena terjadi infeksi atau peradangan pada saluran pencernaan. Penyebab umum terjadi diare karena kurangnya kebersihan lingkungan atau adanya kontaminasi pada makanan atau minuman yang dikonsumsi. Shigellosis adalah salah satu penyakit infeksi saluran pencernaan dengan gejala diare cair akut, tinja berdarah, lendir, dan nanah, disertai demam dan nyeri (Levine, 2000).

Bakteri yang paling sering menyebabkan terjadinya diare terutama diare basiler adalah bakteri *Shigella* sp. *Shigella sonnei* merupakan salah satu anggota bakteri *Shigella* sp yang menjadi penyebab terjadinya gangguan pencernaan (Shigellosis) (Rudolph, 2003). Bakteri ini hanya dapat tumbuh di saluran pencernaan dan juga bersifat patogen, sehingga dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan (diare basiler) (Nafianti, 2005).

Ekstraksi bertingkat atau fraksinasi merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut berdasarkan polaritas senyawa yang akan dicari, mulai dari pelarut non polar hingga pelarut polar (Endang, 2015).

Kitolod merupakan tumbuhan yang dikenal memiliki efek antibakteri yang besar (Dalimartha, 2008, Haspari, 2016, Paramita 2015, Safitri 2006, Yulis, 2006). Masyarakat menggunakan bagian daun dan bunga tanaman kitolod untuk mengobati peradangan atau infeksi. Alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid merupakan senyawa-senyawa antibakteri yang terdapat pada tumbuhan kitolod.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui fraksi teraktif ekstrak daun kitolod dalam menghambat bakteri *Shigella sonnei* yang ditumbuhkan pada medium Muller Hilton serta mencari konsentrasi optimumnya. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan penelitian dari satu atau dua fraksi terhadap bakteri berbeda, sedangkan penelitian ini menggunakan 3 fraksi yang diujikan pada bakteri yang belum pernah diuji dengan daun kitolod yaitu bakteri *Shigella sonnei*. Data hasil hambatan akan digunakan untuk perhitungan konsentrasi optimum pada fraksi teraktif ekstrak daun kitolod dalam menghambat bakteri *Shigella sonnei*.

2. Tinjauan Pustaka

2.1 Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi merupakan proses untuk memisahkan kandungan kimia bahan yang dapat larut dan tidak dapat larut dengan pelarut cair. Ekstrak dapat dinyatakan sebagai sediaan yang diperoleh dari proses ekstraksi tanaman obat dengan volume tertentu dan menggunakan alat pengekstraksi tertentu (Goeswin, 2009). Ekstraksi bertingkat merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut berdasarkan polaritas senyawa yang akan dicari, mulai dari pelarut non polar hingga pelarut polar (Endang, 2015). Jenis ekstraksi bertingkat biasanya disebut sebagai fraksinasi.

2.2 Pelarut

Jenis pelarut yang akan digunakan untuk ekstraksi harus diperhatikan, karena menyangkut keamanan sampel. Berbagai pelarut dapat digunakan, kecuali pelarut yang bersifat toksik (Goeswin, 2009). Heksana merupakan senyawa hidroksikarbon alkana. N-Heksan merupakan salah satu pelarut non-polar (Depkes, 2014). Kloroform merupakan senyawa yang mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 99,5% CHCl_3 dan sisanya merupakan alkohol. Kloroform merupakan pelarut dengan sifat semipolar. Jika menguapkan kloroform saat ada nyala, maka akan terbentuk gas yang berbahaya (Depkes, 2014). Etanol merupakan pelarut pilihan untuk memperoleh ekstrak secara klasik, seperti tinktur, ekstrak cair, kental, dan kering yang masih sangat luas digunakan dalam formulasi sediaan farmasi (Goeswin, 2009).

2.3 Kitolod

Kitolod (*Isotoma longiflora* (Wild.) Presl.) merupakan tumbuhan yang berasal dari Hindia Barat. Tumbuhan liar ini sering ditemui tumbuh di pinggir saluran air atau sungai, pematang sawah, sekitar pagar, dan tempat-tempat lain yang terbuka dan lembab. Tanaman Kitolod mengandung senyawa alkaloid, lobelin, lobelamin, isotomin, saponin, flavonoid, dan polifenol (Dalimartha, 2008 dan Suparni, 2012) Pada daun kitolod terdapat senyawa politerol, alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid (Handayani, 2013 dan Ali, 2003).

2.4 *Shigella sonnei*

Bakteri *Shigella sonnei* merupakan salah satu bakteri golongan *Shigella sp.* Morfologi bakteri *Shigella sp* masuk dalam bakteri gram negatif yang berbentuk batang ramping. *Shigella* merupakan genus bakteri yang patogen. Beberapa *Shigella* dapat menyebabkan penyakit sigelosis yaitu suatu disentri basiler (Cappuccino, 2013).

Infeksi yang disebabkan *Shigella* jarang menginvasi ke aliran darah. Dosis infektifnya hanya sekitar 10^3 , sehingga bakteri ini sangat mudah menular. Endotoksin dari *Shigella* dapat menimbulkan iritasi dinding usus. Gambaran umum terinfeksi *Shigella* adalah mendadak terasa nyeri abdomen dan demam yang disertai diare cair. *Shigella* umumnya ditularkan melalui makanan, jari-jari tangan, feses, dan lalat melalui hubungan sesama manusia (Jawetz, 2012).

3. Metode Penelitian

3.1. Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, pengayak serbuk 40 mesh, toples kaca, erlenmeyer, batang pengaduk, gelas ukur, *rotary evaporator*, cawan porselin, *waterbath* (memmert), autoklaf, kompor listrik, panci, corong pisah, tabung reaksi, pipet tetes, mikropipet, cawan petri, kawat ose, rak tabung reaksi, incubator (memmert), *Laminar Air Flow* (LAF), *spreader glass*, bunsen, dan *cork borer*.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun kitolod, etanol 96% (teknis), kertas saring, n-heksan (teknis), kloroform (pro analisis), aquades (teknis), biakan bakteri *Shigella sonnei* (Inokulasi dari Universitas Muhammadiyah Surakarta), media Muller Hilton (MERCK), media Nutrien agar (oxid), media Brain Heart Infusion (BHI) (oxid), siprofloksasin, plat silica gel 60 GF₂₅₄ (MERCK), methanol (pro analisi), air, etil asetat (pro analisi), FeCl₃ (MERCK), AlCl₃ (MERCK), Liberman Burchard dan reagen Dragendrof.

3.2. Metode

Penelitian yang digunakan termasuk ke dalam penelitian eksperimental, yaitu mengamati fraksi

aktif yang terdiri dari fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi etanol dari ekstrak daun kitolod beserta konsentrasi optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella sonnei*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel bebas dari penelitian ini adalah fraksi n-heksan, kloroform dan etanol ekstrak daun kitolod dengan konsentrasi 10% v/v, 20% v/v, 30% v/v, dan 40% v/v, sedang variabel terikat adalah zona hambat atau zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran yang diberikan sampel.

3.3. Tahapan Penelitian

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah determinasi tanaman kitolod yang dilakukan oleh UPT. Materia Medica Batu, Malang dan menunjukkan bahwa tanaman kitolod (*Isotoma longiflora* (Wild.) Presl.) sesuai dengan yang akan digunakan dalam penelitian.

Kedua merupakan pembuatan ekstrak cair daun kitolod dengan mengekstraksi menggunakan etanol 96% dan dilakukan dengan metode maserasi. Ekstrak cair daun kitolod kemudian dikentalkan dengan rotary evaporator dan dipekatkan dengan waterbath. Hasil dari ekstraksi kemudian difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etanol 96%, kloroform, dan n-heksan. Fraksi cair dari ketiga pelarut dipekatkan dan dikentalkan seperti hasil ekstraksi pertama.

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ketiga fraksi dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi-fraksi tersebut ditotolkan di atas plat silica gel dan dimasukkan ke dalam pelarut yang telah dijenuhkan. Hasil pemisahan dari totalan fraksi kemudian disemprot dengan pereaksi warna. Uji skrining kimia yang dilakukan yaitu uji alkaloid, uji flavonoid, uji steroid, dan uji saponin.

Sebelum melakukan uji antibakteri, pembuatan konsentrasi ketiga fraksi dan kontrol positif (siprofloksasin) perlu dilakukan. Semua sampel dilarutkan dengan DMSO sehingga didapatkan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% v/v.

Bakteri yang akan digunakan, dibiakkan terlebih dahulu agar diperoleh stok bakteri dan lebih mudah digunakan untuk membuat suspensi bakteri. Suspensi bakteri dibuat dengan menambahkan NaCl 0,9%, hingga kekeruhannya setara dengan Mc Farland 0,5.

Suspensi bakteri kemudian ditanamkan ke media Muller Hilton dan dibuat empat sumuran di setiap cawan petri. Selanjutnya setiap sumuran diberi empat konsentrasi yang berbeda dalam satu jenis sampel. Semua cawan petri yang telah diberi perlakuan dimasukkan ke dalam inkubator selama 18-24 jam dengan suhu 37°C untuk mengoptimalkan pertumbuhan bakteri sesuai dengan suhu optimal *Shigella sonnei*. Pengamatan dilakukan terhadap aktivitas antibakteri larutan uji dan kontrol positif. Semua zona hambat diukur dan dilakukan perhitungan.

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan ANOVA dengan taraf signifikansi 95% ($\alpha = 0,05$).

Tabel 1. Rancangan Perlakuan dan Konsentrasi perlakuan (% v/v)

Fraksi	Ulangan	Konsentrasi			
n-Heksan	1	10%	20%	30%	40%
	2	20%	30%	40%	10%
	3	30%	40%	10%	20%
Kloroform	1	40%	10%	20%	30%
	2	10%	20%	30%	40%
	3	20%	30%	40%	10%
Etanol	1	30%	40%	10%	20%
	2	40%	10%	20%	30%
	3	10%	20%	30%	40%
Kontrol Positif	1	10%	20%	30%	40%
	2	40%	10%	20%	30%
	3	30%	40%	10%	20%

4. Hasil Dan Pembahasan

Serbuk daun kitolod merupakan bahan yang digunakan sebagai sampel dan diekstraksi untuk mendapatkan pemisahan senyawa yang diinginkan. Ekstrak kental yang didapatkan setelah dikentalkan dan dipekatkan dapat dilihat di bawah ini.



Gambar 1. Hasil ekstrak pekat

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian difraksinasi untuk mendapatkan fraksi sesuai dengan tingkat kepolarannya. Berikut hasil fraksi.



Gambar 2. Ekstrak hasil fraksiasi

Pembuatan konsentrasi pada ketiga fraksi dan kontrol positif didapatkan dengan empat konsentrasi yang berbeda yaitu 10%, 20%, 30%, dan 40% v/v.

Hasil dari ketiga fraksi kemudian di skringing fitokimia dan didapatkan hasil senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid. Berikut tabel hasil skringing fitokimia:

Tabel 2. Hasil skringing fitokimia

Golongan Senyawa	Fraksi N-heksan	Fraksi Kloroform	Fraksi Etanol
Alkaloid	√	√	√
Flavonoid			√
Saponin		√	√
Steroid		√	

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran dengan sampel fraksi n-

heksan, kloroform, dan etanol. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa setiap fraksi memiliki pengaruh atau terdapat zona hambat pada sampel.

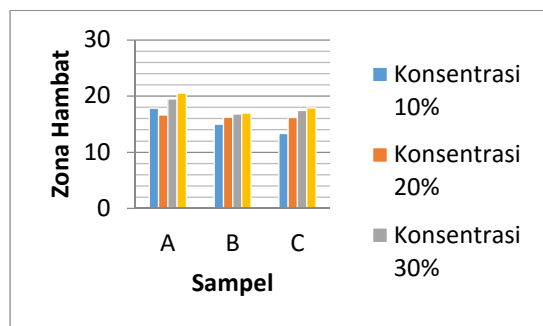
Berdasarkan analisis data statistik *One Way ANOVA* dengan taraf signifikansi 95% ($\alpha = 0,05$) menunjukkan data antara satu sampel dengan sampel lainnya.

Tabel 3. Hasil data zona hambat uji lanjutan ANOVA

Sampel	K 10% (mm)	K 20% (mm)	K 30% (mm)	K 40% (mm)
A	17,83 ^{b,c,d}	16,67 ^{b,c}	19,50 ^{c,d}	20,50 ^d
B	15,00 ^{a,b}	16,25 ^{a,b,c}	16,83 ^{b,c}	17,00 ^{b,c}
C	13,33 ^a	16,17 ^{a,b}	17,42 ^{b,c,d}	17,88 ^{b,c,d}
D	60,92 ^e	63,17 ^{e,f}	64,58 ^f	72,83 ^g

Keterangan: A (fraksi etanol), B (fraksi kloroform), C (fraksi n-heksan), dan D (kontrol positif/siprofloksasin).

Hasil data zona hambat di Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa fraksi n-heksan, kloroform, etanol, dan kontrol positif (siprofloksasin) memiliki pengaruh terhadap bakteri *Shigella sonnei*. Hasil dari ketiga fraksi kemudian diperoleh bahwa fraksi etanol memiliki daya hambat terbesar dalam menghambat bakteri. Sedangkan konsentrasi optimum dalam fraksi etanol yang paling efektif dalam menghambat bakteri adalah konsentrasi 40% v/v. Hasil dari data yang diperoleh dapat diringkas dalam grafik batang berikut:



Gambar 3. Grafik batang zona hambat fraksi etanol (A), fraksi kloroform (B), dan fraksi n-heksan (C) dari tabel 3.

3.4 Analisis Halal

Tabel 4. Identifikasi kehalalan

Identifikasi	Hasil Kualifikasi	
	Halal berdasarkan MUI (2018)	Non halal
Bahan- Bahan	√	√
Prosedur	√	
Hasil pendistri busian	√	

Hasil dari analisis berikut dan Fatwa MUI terbaru No. 10 Tahun 2018 menunjukkan bahwa etanol 96% memiliki kualifikasi non halal, tetapi setelah mengalami beberapa proses bahan

menjadi halal. Bahan yang mengandung etanol 96% yang awalnya memiliki hukum non-halal kemudian diuapkan, sehingga unsur etanol hilang saat diuapkan dan ekstrak tidak lagi mengandung etanol 96%. Etanol yang digunakan juga merupakan etanol yang bukan dibeli dari perusahaan khamr.

5. Kesimpulan

Fraksi n-heksan, kloroform, dan etanol ekstrak daun kitolod memiliki potensi hambatan terhadap bakteri *Shigella sonnei*. Fraksi teraktif adalah fraksi etanol dengan konsentrasi optimum dalam menghambat bakteri adalah konsentrasi 40% v/v sebesar 20,50 mm.

Daftar Pustaka

1. Ali, I., 2003. *Khasiat dan Manfaat Kitolod Penakluk Gangguan Pada Mata*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
2. Cappuccino, J. G., 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Ed 8, Hal:1, 103, dan 104., ISBN 978-979-044-417-1 ed. Jakarta: EGC.
3. Dalimartha, S., 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 5 ed. Jakarta: Pustaka Bunda.
4. Depkes, 2014. *Farmakope Indonesia*. Edisi V. Jakarta: Depkes RI.
5. Endang, H., 2015. *Analisis Fitokimia*. Hal: 10,11,79,103,133,227 ISBN 978-979-044-606-9 ed. Jakarta: EGC.
6. Fatwa MUI terbaru tentang No. 10 tahun 2018 tentang Produk Makanan dan Minuman yang Mengandung Alkohol/Etanol
7. Goeswin, A., 2009. *Sediaan Farmasi Steril*. Bandung: Penerbit ITB.
8. Handayani, 2013. Angka Kejadian Serangan Stroke pada Wanita Lebih Rendah daripada Laki-laki. *Jurnal Keperawatan Medical Bedah*, Volume Vol. 1, p. No. 1.
9. Haspari, A., 2016. *Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar, dan Nonpolar Herba Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.) Terhadap Sel MCF-7*, Solo. Hal: 13: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
10. Jawetz, Melnick, and Adelberg/Geo F. Books *et al.*, 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Alih Bahasa Ardiyandhito Widhi, ISBN 978-979-044-250. Hal 225, 230-232 ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
11. Levine, M., 2000. Strickland GT. Huneters "Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. *Shigellosis*, Edisi 8(W.B Saunders), pp. 319-323.
12. Nafianti, S., & Sinuhaji, A. B., 2005. *Resesten Trimetoprim-Sulfametoksazol terhadap Shigellosis*. 7 (1) ed. s.l.:Sari Pediatri.
13. Paramita, Shinta., Eryanti, Yum., Yuda, Hilwan T., 2015. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Tumbuhan Kitolod (*Isotoma longiflora* (Wild.) Presl) Terhadap *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *JOM FMIPA*, 2(No.2), p. 2.
14. Rudolph, A. M., Hoffman, J. I. E., & Rudolph, C. D., 2003. *Rudolph's Pediatrics*. 21th ed ed. s.l.:Stamford, Appleton dan Lange.
15. Safitri, I., Inayah, Hamidy, M. Y., dan Syafri D., 2009. Isolasi dan Uji Aktifitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bunga, Batang dan Daun Sapu Jagad (*Isotoma longiflora* (L) Presl.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *JIK*, Volume 3 (1), pp. 20-23.
16. Suparni, dan Wulandari, A., 2012. *Herbal Nusantara 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia*. Yogyakarta: Rapha Publishing.
17. Yulis, M. H., 2006. Efek Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sapu Jagad (*Isotoma longiflora*) Terhadap *Escherichia coli*. *J.Sains Tek*, Vol.12(ISSN 0853-733X., FMIPA Universitas Lampung), pp. 91-96.