



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA III

"Teori dan Aplikasi Sains dalam Isu Globalisasi Lingkungan, Profesionalisasi Pembelajaran dan Kewirausahaan"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS

Surakarta, 7 Mei 2011



MAKALAH PENDAMPING

KIMIA ORGANIK
(Kode : E-10)

ISBN : 978-979-1533-85-0

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI NONPOLAR EKSTRAK ETANOL BUAH STROBERI (*Fragaria x ananassa*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* MULTIRESISTEN ANTIBIOTIK

Ayu Putri Fauziah, Haryoto, Peni Indrayudha

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jalan A. Yani, Pabelan Kartasura, Surakarta 57102, Jawa Tengah

Abstrak

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tumbuhan stroberi. Buah stroberi mengandung flavonoid dan fenolik yang mempunyai aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktifitas penghambatan fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik. Ekstrak etanol buah stroberi diproses melalui ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Ekstrak yang didapat difraksinasi menjadi tiga fraksi yaitu fraksi nonpolar, semipolar dan polar. Fraksi nonpolar selanjutnya diuji aktivitas penghambatan terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik dengan metode dilusi cair dengan konsentrasi 0,5% b/v, 1% b/v, 2% b/v, 4% b/v, dan 8% b/v dan dilanjutkan dilusi padat untuk penegasan aktivitas. Kadar terkecil yang dapat menghambat bakteri ditetapkan dengan Kadar Hambat Minimal (KHM). Dilakukan uji kromatografi lapis tipis untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) memiliki aktivitas penghambatan terhadap *E. coli* multiresisten antibiotik dengan KHM 8% dan *S. aureus* multiresisten antibiotik dengan KHM 4% b/v. Dari hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) mengandung flavonoid.

Kata kunci : *Fragaria x ananassa* (stroberi), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* multiresisten, fraksi nonpolar.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih merupakan penyakit utama dan penyebab kematian nomor satu di Indonesia (Batubara, 2008). Infeksi dapat terjadi jika mikroorganisme tumbuh dan mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh (James *et al.*, 2008). *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan contoh bakteri yang tergolong flora normal pada manusia dan berpotensi patogen (Jawetz *et al.*, 2005). *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia yang pada kondisi lain dapat menyebabkan pernanahan, abses, berbagai infeksi piogen, dan bahkan septikemia yang fatal (Jawetz *et al.*,

2005). Bakteri *Escherichia coli* terdapat pada usus manusia sebagai flora normal yang dapat menyebabkan diare karena kontaminasi produk makanan dengan sampah yang mengandung bakteri tersebut (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri ini juga merupakan penyebab paling banyak infeksi sistem saluran kencing (Jawetz *et al.*, 2005).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tumbuhan stroberi. Dalam buah stroberi terdapat beberapa komponen kimia seperti *hydrolyzable tannins* (*ellagitannins*, *gallotannins*, dan asam *ellagic*), antosianin, flavonol, turunan asam hidroksisinnamat dan esternya, dan flavanol (katekin) (Seeram *et al.*, 2006). Secara tradisional

buah stroberi digunakan oleh suku Indian di bagian barat Washington untuk pengobatan diare, gonorrhoea, gout, sakit perut, dan batu ginjal (Mark, 2006). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Anggani (2009) diketahui bahwa kandungan flavonoid ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi efektif ekstrak 513 ppm dan terhadap bakteri *S. dysenteriae* pada konsentrasi efektif ekstrak 980,842 ppm. Hasil infusa buah stroberi yang mengandung komponen flavonoid juga telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri (Gunawan *et al.*, 2010).

Berdasarkan data dari penelitian tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas penghambatan bakteri fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik.

METODE PENELITIAN

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat maserasi, alat-alat gelas, seperangkat alat kromatografi Vakum Cair (KVC), rotary evaporator, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), ose steril, mikropipet, eppendorf, *blue tips* dan *yellow tips*, bunsen, inkubator, oven, pipa kapiler, plat silika gel, kertas saring, *chamber* kromatografi, lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm.

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah simplisia buah stroberi (*Fragaria x ananassa*), etanol 95%, silika gel GF254, etil asetat (teknis), metanol (teknis), aseton, Silika Gel 60 F254, suspensi *S. aureus* dan *E. coli* multiresisten antibiotik 10⁶ CFU/mL, akuades steril, CMC-Na, media *Brain Heart Infusion* (BHI), media MH, dan pereaksi penampak bercak seperti FeCl₃, uap amonia dan sitroborat.

JALANNYA PENELITIAN

3.1 Determinasi tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

3.2 Pengumpulan dan Penyiapan Bahan

Buah stroberi berasal dari perkebunan Cemoro Sewu, Kecamatan Plaosan, Kabupaten Magetan, Jawa Timur. Buah stroberi dibersihkan dengan kain kering hingga bersih. Selanjutnya dihaluskan dengan blender lalu dikeringkan. Proses pengeringan dilakukan di bawah sinar matahari dan ditutup kain tipis berwarna hitam. Bahan yang sudah dikeringkan selanjutnya diserbuk dengan blender hingga didapat serbuk kasar.

3.3 Penyarian

Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi. Serbuk buah stroberi sebanyak 272,6142 gram direndam dalam 2000 mL etanol 96% selama 24 jam sambil diaduk sesekali. Setelah 24 jam kemudian disaring hingga didapatkan ampas dan filtrat etanol. Ampas yang didapat diremaserasi 2 kali dengan perendaman masing-masing 24 jam, hingga diperoleh lagi ampas dan filtrat etanol. Filtrat etanol selanjutnya diuapkan dengan *vaccum rotary evaporator* dan dipampatkan di atas *waterbath* sehingga terbentuk ekstrak kental.

3.4 Fraksinasi

Sebanyak 25 gram ekstrak etanol buah stroberi difraksinasi menggunakan Kromatografi Vakum Cair (KVC). Ekstrak 25 gram diimpreg dengan 50 gram Silika gel G 60. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dan Fase gerak (eluen) yang digunakan adalah etil asetat : metanol (9:1) sebanyak tiga kali, etil asetat : metanol (8:2) sebanyak empat kali, etil asetat : metanol (7:3) sebanyak empat kali, etil asetat :

metanol (6:4) sebanyak tiga kali, dan etanol sebanyak 2 kali.

1.5 Uji mikrobiologi

1.5.1 Persiapan alat

Alat yang digunakan untuk uji antibakteri diserilkan terlebih dahulu. Untuk alat-alat tahan panas disterilkan dalam oven pada suhu 170°C selama 90 menit. Untuk bahan-bahan yang digunakan seperti media, *blue tips* dan *yellow tips* disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama kurang lebih 15 menit, sedangkan ose cukup disterilkan dengan pemanasan pada api bunsen sesaat sebelum digunakan.

1.5.2 Pembuatan media

Media yang digunakan telah tersedia dalam kemasan, untuk itu pada pembuatannya hanya dengan melarutkan dalam akuades sesuai petunjuk yang terdapat pada kemasan. Banyaknya media yang ditimbang untuk tiap liter adalah sebagai berikut : media MH 38 gram, media BHI 37 gram, untuk BHI *double strength* dibuat dengan penimbangan dua kalinya, yaitu 74 gram untuk satu liter. Media yang telah dilarutkan akuades kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

1.5.3 Penyiapan suspensi bakteri

Satu mata ose dari stok bakteri disuspensikan ke dalam 2 mL media cair BHI, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Sebanyak 200 µL diambil, lalu disuspensikan ke dalam 2 mL media cair BHI, diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 – 5 jam. Pengenceran dilakukan dengan akuades steril untuk mendapatkan kekeruhan yang sama dengan standar Mc. Farland 10⁸CFU/mL, selanjutnya diambil 100 µL diencerkan dengan 10 mL BHI *double strength* hingga didapat konsentrasi 10⁶CFU/mL.

1.5.4 Pembuatan seri konsentrasi

Seri konsentrasi fraksi nonpolar dibuat dari stok awal 8% yang diencerkan hingga didapat konsentrasi akhir 8% b/v, 4% b/v, 2% b/v, 1% b/v, dan 0,5% b/v. Pembuatan stok 8% dilakukan dengan menimbang fraksi non polar sebanyak 80 mg lalu disuspensikan dalam CMC-Na sampai 1mL. Pembuatan seri konsentrasi dilakukan dengan pengenceran bertahap dalam eppendorf. Pada eppendorf A dan B ditambahkan 0,5 mL larutan stok. Eppendorf B ditambahkan dengan 0,5 mL akuades steril, kemudian dicampur homogen, dan campuran ini diambil 0,5 mL untuk dimasukkan ke eppendorf C. Eppendorf C ditambahkan 0,5 mL akuades steril, kemudian dicampur homogen, dan campuran ini diambil 0,5 mL untuk dimasukkan ke eppendorf D. Eppendorf D ditambahkan 0,5 mL akuades steril, kemudian dicampur homogen, dan campuran ini diambil 0,5 mL untuk dimasukkan ke eppendorf E. Eppendorf E ditambahkan 0,5 mL akuades steril, kemudian dicampur homogen, dan campuran ini diambil 0,5 mL untuk dimasukkan ke eppendorf F. Eppendorf yang digunakan sebagai seri konsentrasi adalah eppendorf A sampai E dengan urutan konsentrasi dari konsentrasi tinggi ke rendah yaitu 8% b/v, 4% b/v, 2% b/v, 1% b/v, dan 0,5% b/v. Secara skematis pembuatan seri konsentrasi fraksi dapat dilihat pada Gambar 1.

1.5.5 Penyiapan kontrol

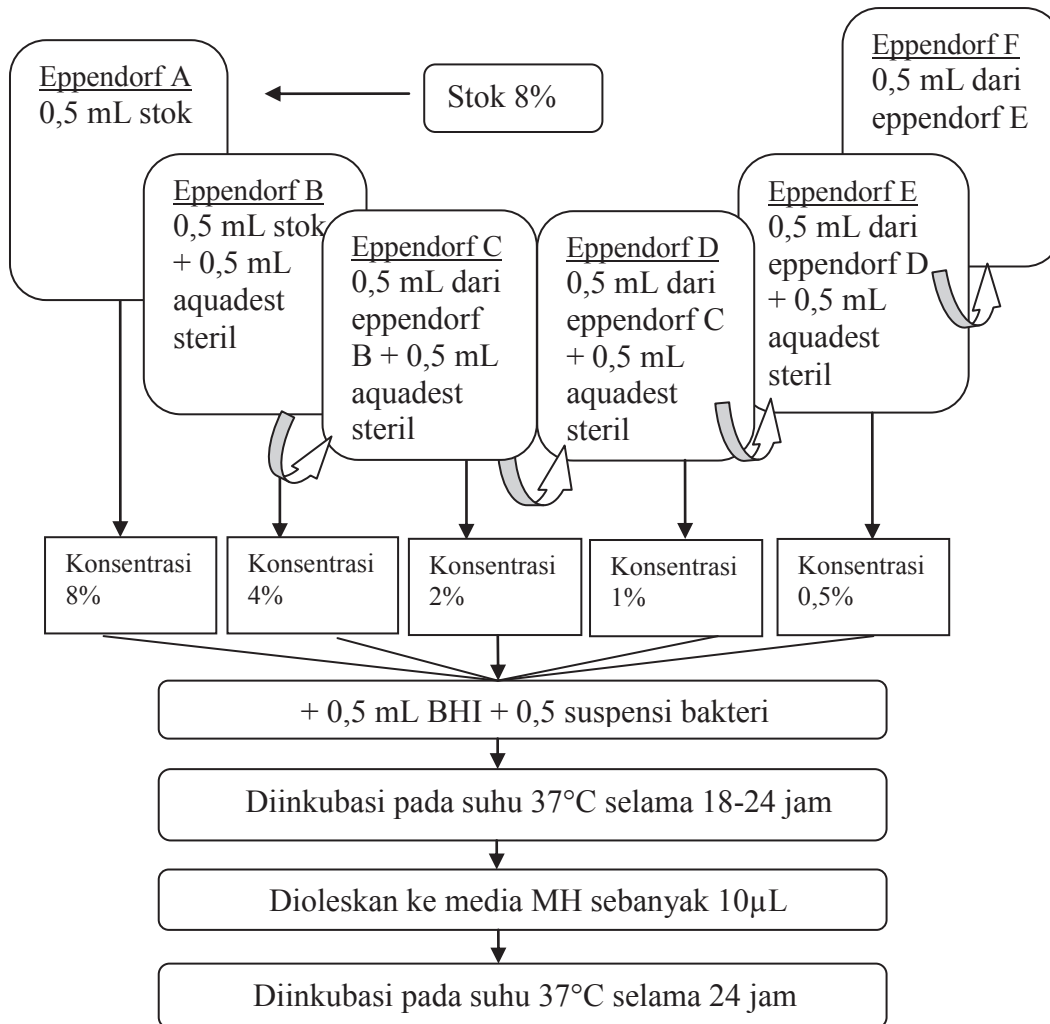
Kontrol yang digunakan terdiri dari Kontrol kontrol media (K1) yang berisi media BHI, Kontrol kontrol pertumbuhan (K2) yang berisi Media BHI dan suspensi bakteri, Kontrol K3 kontrol *suspending agent* (K3) yang berisi media BHI, CMC-Na 1%, dan suspensi bakteri.

1.5.6 Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM)

Seri konsentrasi dalam masing-masing eppendorf ditambahkan 0,5mL media BHI dan 0,5 mL suspensi bakteri, sehingga volume totalnya menjadi 1,5 mL, kemudian diinkubasi selama 24

jam. Setelah inkubasi 24 jam dilakukan penanaman pada tabung reaksi yang berisi media MH untuk penegasan aktivitas bakteri terhadap fraksi nonpolar. Penanaman dilakukan dengan mengambil 10 μ L dari tiap eppendorf dan

diratakan dalam tabung reaksi menggunakan ose steril. Kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Kadar terkecil yang dapat menghambat bakteri disebut dengan kadar hambat minimum (KHM).



Gambar 1. Pembuatan Seri Konsentrasi Fraksi dan Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi Cair

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan identitas tanaman yang akan diteliti untuk menghindari terjadinya kesalahan pengambilan tanaman. Berdasarkan hasil determinasi tersebut telah diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Fragaria x ananassa* Duch.

4.2 Penyarian

Serbuk buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) sebanyak 272,6142 gram yang disari dalam 2000 mL etanol 96% dengan metode remaserasi 3x24 jam diperoleh ekstrak etanol buah stroberi sebanyak 138,8085 gram dengan rendemen 50,9176%.

4.3 Fraksinasi

Sebanyak 25 gram ekstrak etanol buah stroberi difraksinasi menggunakan KVC. Proses

fraksinasi menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan Fase gerak etil asetat : metanol dengan perbandingan kepolaran yang meningkat. Dari hasil fraksinasi tersebut berdasarkan kesamaan profil KLT-nya didapatkan tiga fraksi dengan pola pemisahan yang sama. Fraksi pertama dengan pola kromatogram yang memiliki nilai Rf paling tinggi dikelompokkan sebagai fraksi nonpolar. Senyawa nonpolar memiliki Rf tinggi karena terbawa oleh fase gerak yang juga bersifat nonpolar. Fraksi kedua yaitu fraksi semipolar. Fraksi ketiga yaitu fraksi polar yang memiliki pola kromatogram dengan nilai Rf paling rendah. Senyawa polar lebih terikat kuat dengan fase diam yang bersifat polar sehingga memiliki Rf rendah. Tahap berikutnya fraksi nonpolar dipisahkan dengan *vaccum rotary evaporator* dan didapatkan bobot fraksi yaitu 1,74 gram dengan rendemen sebesar 6,96%.

4.4 Analisis kandungan senyawa dengan KLT

Proses KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam silika Gel GF₂₅₄ yang telah diaktifkan sebelumnya dalam oven pada suhu 105° C selama 1 jam dan fase gerak yang digunakan adalah yang paling baik dari hasil optimasi sebelumnya yaitu etil asetat : metanol dengan perbandingan 8 : 2.

Dari hasil analisis KLT dengan uap amonia dan sitroborat, tampak pada Rf 0,14 dan 0,7 tampak pepadaman pada lampu UV 254 nm dan berwarna kuning-kehijauan pada UV 366 nm sehingga senyawa tersebut mengandung flavonoid. Identifikasi flavonoid pada sinar UV 254nm menyebabkan pepadaman fluoresensi dan tergantung pada strukturnya, flavonoid memberikan bercak warna kuning, biru atau hijau pada UV 366nm (Markham, 1988).

Pereaksi semprot FeCl₃ digunakan untuk mendeteksi senyawa fenolik atau tannin yang akan memberikan warna hijau, merah ungu, biru, kelabu, atau hitam (Harborne, 1996). Dari

penyemprotan dengan FeCl₃ tidak nampak adanya spot pada kromatogram yang dilihat secara visual, hal ini berarti tidak mengandung senyawa fenolik.

4.5 Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas penghambatan bakteri dilakukan dengan metode dilusi cair. Untuk mengetahui adanya aktivitas penghambatan bakteri dilakukan penanaman pada media padat Mueller Hinton dalam tabung reaksi. Pada penelitian ini digunakan tiga kontrol yaitu kontrol media (K1), kontrol pertumbuhan (K2) dan kontrol *suspending agent* (K3). Kontrol media (K1) bertujuan untuk memastikan kesterilan media dan mengetahui ada tidaknya kontaminasi dalam media yang digunakan. Kontrol pertumbuhan (K2) bertujuan untuk memastikan bakteri dapat tumbuh baik pada media. Kontrol *suspending agent* (K3) bertujuan untuk memastikan bahwa *suspending agent* CMC-Na tidak mempunyai efek antibakteri. Hasil uji fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap *S. aureus* multiresisten antibiotik dengan KHM sebesar 4% dan terhadap *E. coli* multiresisten antibiotik dengan nilai KHM sebesar 8% karena pada konsentrasi tersebut terdapat penghambatan pertumbuhan bakteri.

Bakteri *S. aureus* lebih sensitif terhadap fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi dibandingkan dengan *E. coli*. Adanya perbedaan komponen penyusun dinding sel dari kedua bakteri menjadi alasan perbedaan respon tersebut. Dinding sel bakteri *S. aureus* terdiri dari peptidoglikan dan asam teichoat, sedangkan pada *E. coli* dinding selnya lebih rumit yaitu terdiri dari lapisan peptidoglikan, lipoprotein, selaput luar, dan lipopolisakarida. Bakteri *S. aureus* juga tidak memiliki selaput luar yang berfungsi untuk mencegah kebocoran dari protein periplasma dan

melindungi sel dari garam-garam empedu dan enzim-enzim hidrokisi lingkungan luar (Jawetz *et al.*, 2005).

Dalam penelitian sebelumnya ekstrak etanol buah stroberi memiliki aktivitas antibakteri dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 2% pada bakteri *Escherichia coli* dan KBM 1% pada *Staphylococcus aureus* multiresisten Antibiotik. Dari hasil tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak lebih poten karena dapat membunuh bakteri, sedangkan fraksi hanya menghambat pertumbuhan bakteri saja. Kandungan senyawa kimia dalam ekstrak diduga masih dalam bentuk yang kompleks, sehingga

pada saat komponen kimia tersebut masih dalam bentuk yang utuh akan memberikan aktivitas yang lebih tinggi bila dibandingkan pada saat komponen kimia tersebut sudah terpisah-pisah dalam bentuk fraksi-fraksi (Sediarso dan Bucahary, 2006).

Berdasarkan penelitian ini kandungan senyawa yang terdapat dalam fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi adalah flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenolik yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak dinding sel bakteri tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Pelczar dan Chan, 1988).

Tabel 1. Uji Aktivitas Fraksi nonpolar Ekstrak Etanol Buah Stroberi terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten Antibiotik dengan Metode Dilusi Cair

Seri konsentrasi (%)	<i>E. coli</i>			<i>S. aureus</i>		
	I	II	III	I	II	III
0,5	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++	++	++	++
8	+	+	+	+	+	+
K1	-					
K2	+++			+++		
K3	+++			+++		

Keterangan:

(+) = ada pertumbuhan bakteri (keruh)

(-) = tidak ada pertumbuhan bakteri (jernih)

K1 (kontrol media) = media BHI

K2 (kontrol pertumbuhan) = Media BHI + suspensi bakteri

K3 (kontrol *suspending agent*) = media BHI = CMC-Na 1% + suspensi bakteri

Gambar 2. Uji Aktivitas Fraksi Nonpolar Ekstrak Etanol Buah Stroberi terhadap *E. coli* dan *S. aureus* Multiresisten Antibiotik dengan Metode Dilusi Padat



KESIMPULAN

Fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap *S. aureus* multiresisten antibiotik dengan KHM sebesar 4% dan terhadap *E. coli* multiresisten antibiotik dengan nilai KHM sebesar 8%. Kandungan senyawa dalam fraksi nonpolar ekstrak etanol buah stroberi adalah flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggani, R., 2009, Standarisasi Mutu Ekstrak Etanol Buah Stroberi (*Fragaria vesca L.*) Melalui Penetapan Kadar Flavonoid Total Sebagai Antimikroba Penyebab Diare, *Skripsi*, Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto.
- Batubara, P. L., 2008, *Farmakologi Dasar*, 83-86, Penerbit Leskonfi, Jakarta.
- Cronquist, A., 1981, *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia University Press, New York, 477.
- Gunawan, H. A., Putri, A. R., Widodo, H., Mangundjaja, S., 2010, The Effect of *Fragaria x ananassa* on Salivary Mutans Streptococci, *Karya Ilmiah*, Departement of Oral Biology Faculty of Dentistry Universitas Indonesia, Jakarta.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., dan Soediro, Penerbit ITB, Bandung.
- James, J., Baker, C., Swain, H., 2008, *Prinsip-prinsip Sains untuk Keperawatan*, Erlangga, Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba medika, Surabaya.
- Mark, R., 2006, *Introduction to Fruit Crops*, 384, The Haworth Press Inc., Binghamton, New York.
- Markham, K. R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih, Padmawinata, ITB, Bandung.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., 1988, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Diterjemahkan oleh Hadisoetomo, S. R., Jilid II, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sediarso, Bucahary, A. S., 2006, Toksisitas Ekstrak Etanol 70%, Fraksi n-Heksan, Fraksi etilasetat, dan Fraksi Air Biji Mimba (*Azadirachta indica A., Juss.*) terhadap Larva *Artemia salina* Leach, *Karya ilmiah*, Fakta, Vol. 3, No.3, April 2007.
- Seeram, N. P., Lee, R., Scheuller, H. S., Heber, D., 2006, Identification of Phenolics in Strawberries by Liquid Chromatography Electrospray Ionization Mass Spectroscopy, *Food Chem.*, 97, 1-11.