

IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI DAUN NONA MAKAN SIRIH (*CLERODENDRUM THOMSONIAE*)

Landy Hartina Banne*, Nurul Annisa, Adam M. Ramadhan

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis”,
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email: landy_hartina@yahoo.co.id

ABSTRAK

Tanaman nona makan sirih merupakan perdu yang tumbuh merambat dan memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan fenolik, dimana kandungan metabolit sekunder dapat memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*), serta mengidentifikasi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan melihat kemampuan ekstrak dalam menekan radikal bebas DPPH, sedangkan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode *disc diffusion* dan KLT bioautografi. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} berturut-turut adalah 76,53 ppm, 196,20 ppm, dan 63,83 ppm. Metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (7:3) adalah flavonoid dan kumarin. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, dan metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (9:1) adalah fenolik dan flavonoid.

Kata Kunci: *Antioksidan, Antibakteri, Clerodendrum thomsoniae*

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v6i1.272>

PENDAHULUAN

Nona makan sirih merupakan tanaman merambat yang berasal dari daerah tropis di Afrika Barat. Tanaman ini biasanya ditanam sebagai tanaman hias. Tanaman nona makan sirih merupakan perdu yang tumbuh merambat dengan tinggi 2-5 m (Utami, 2008). Daun nona makan sirih mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin,

saponin, dan fenolik (Djumidi, 1997). Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Proses oksidasi radikal bebas dapat dihambat atau dinetralkan oleh senyawa yang tergolong antioksidan. Antioksidan adalah zat yang dapat menangkal atau mencegah reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Senyawa fenolik dan flavonoid yang

terkandung dalam tanaman diketahui dapat menangkal radikal bebas (Kusumowati, 2011). Antibakteri adalah suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Ekstrak alkohol dari daun *Clerodendrum inerme* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Shrivastava, 2007), berdasarkan pendekatan hubungan kekerabatan diduga daun nona makan sirih (*Clerodendrum thomsoniae*) juga memiliki aktivitas antibakteri, dimana umumnya tumbuhan yang memiliki hubungan kekerabatan dekat mempunyai anatomi, morfologi dan fisiologi yang mirip (Badaria dalam Maulina, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri serta mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder daun nona makan sirih yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *rotary evaporator*, timbangan analitik, *laminary air flow (LAF)*, spektrofotometer UV-Vis, cawan petri, lampu bunsen, corong kaca, gelas beker, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, labu ukur, *autoclave*, inkubator, spoid, *hot plate*, cawan porselen dan batang pengaduk. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun nona makan sirih yang diambil dari Bontang, etanol 96%, DPPH, metanol, kloroform, aquades, medium *Nutrient agar (NA)*, *aluminium foil*, kapas, kasa, dan benang godam.

Pembuatan ekstrak

Daun nona makan sirih yang telah diambil, dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikering anginkan. Daun nona makan sirih yang telah kering, di potong-potong menjadi bagian yang lebih kecil, dan diekstraksi dengan metode maserasi

menggunakan pelarut etanol 96% selama 2×24 jam. Maserat hasil maserasi disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya sisa pelarut diuapkan dengan cara dikering-anginkan hingga diperoleh ekstrak kental daun nona makan sirih.

Identifikasi metabolit sekunder

a. Uji alkaloid

Fraksi etil asetat ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen. Setelah itu disemprotkan dengan menggunakan pereaksi Dragendorf. Diamati pada lampu UV 254 dan 366 nm. Positif mengandung alkaloid jika noda berwarna cokelat jingga berlatar belakang kuning (Puteri, 2016).

b. Uji Flavonoid

Fraksi etil asetat ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen yang sesuai. Setelah itu disemprot dengan $AlCl_3$. Kemudian diamati bercak pada lampu UV 254 dan 366. Positif mengandung flavonoid jika noda berwarna kuning hijau (Puteri, 2016).

c. Uji Fenolik

Fraksi etil asetat ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen yang sesuai. Setelah itu disemprot dengan $FeCl_3$. Kemudian diamati bercak pada lampu UV 254 dan 366. Positif mengandung fenol jika noda berwarna biru kehitaman, hijau atau biru kehijauan (Wardhani, 2012).

Uji Antrakuinon dan Kumarin

Fraksi etil asetat ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen yang sesuai. Setelah itu disemprot dengan KOH. Kemudian diamati bercak pada lampu UV 254 dan 366. Positif mengandung antrakuinon jika noda berwarna merah, dan positif mengandung kumarin jika noda berwarna biru pada UV 366 (Ahmad, 2015).

Uji Steroid/Triterpenoid

Fraksi etil asetat ditotolkan pada lempeng KLT, kemudian dielusi dengan eluen yang sesuai. Setelah itu disemprotkan dengan menggunakan pereaksi *Liebermann-Burchard*, dan diamati pada lampu UV 254 dan 366 nm. Uji positif steroid menghasilkan warna hijau atau biru dan triterpenoid menghasilkan warna merah atau ungu (Tonius, 2016).

Pengujian Aktivitas Antioksidan

a. Secara Kualitatif

Ditotolkan fraksi etil asetat daun nona makan sirih pada plat KLT dan dielusi dengan eluen kloroform : metanol (7:3). Selanjutnya plat KLT disemprot dengan larutan DPPH dan diamati perubahannya. Munculnya bercak kuning menandakan bahwa senyawa tersebut dapat meredam radikal bebas.

b. Secara Kuantitatif

Masing-masing larutan stok sampel (Ekstrak, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat) dibuat 5 seri konsentrasi (25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, dan 125 ppm) dengan masing-masing 3 replikasi. Kemudian 2 mL masing-masing seri konsentrasi dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH. Dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 514 nm.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

a. Secara Kualitatif

Ditotolkan fraksi etil asetat daun nona makan sirih pada plat KLT dan dielusi dengan kloroform : metanol (9:1).

Selanjutnya plat KLT ditempelkan pada medium agar padat yang sudah berisi bakteri uji, didiamkan plat selama 1 sampai 2 jam, kemudian plat diangkat. Diinkubasi 1×24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona bening yang terdapat didaerah plat.

b. Secara Kuantitatif

Disiapkan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang berbeda, selanjutnya dimasukkan medium NA 10 mL, dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Selanjutnya dicelupkan *paper disc* kedalam vial yang berisi seri konsentrasi (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%), kemudian dikeringkan. *Paper disc* yang mengandung sampel uji ditempelkan pada permukaan medium yang sudah berisi bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi 1×24 jam pada suhu 37°C, dan diamati zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc*

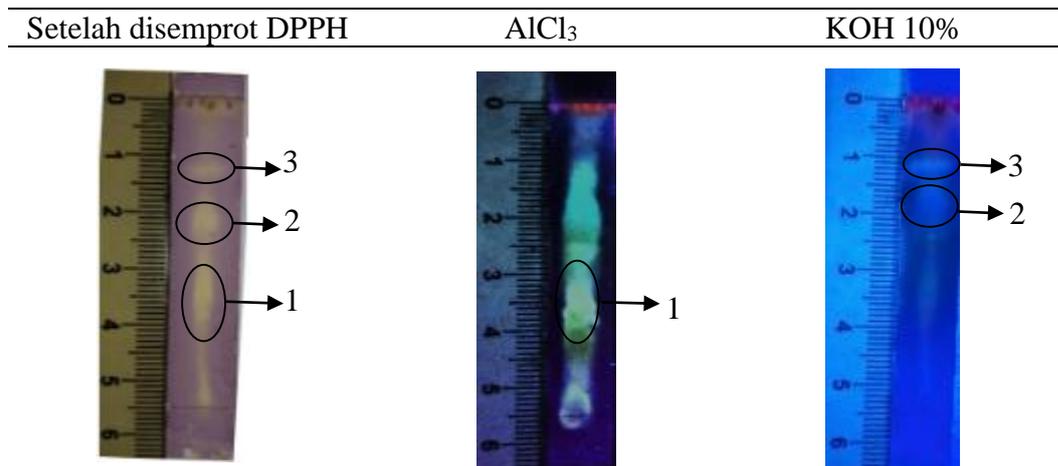
HASIL DAN PEMBAHASAN

Metabolit Sekunder

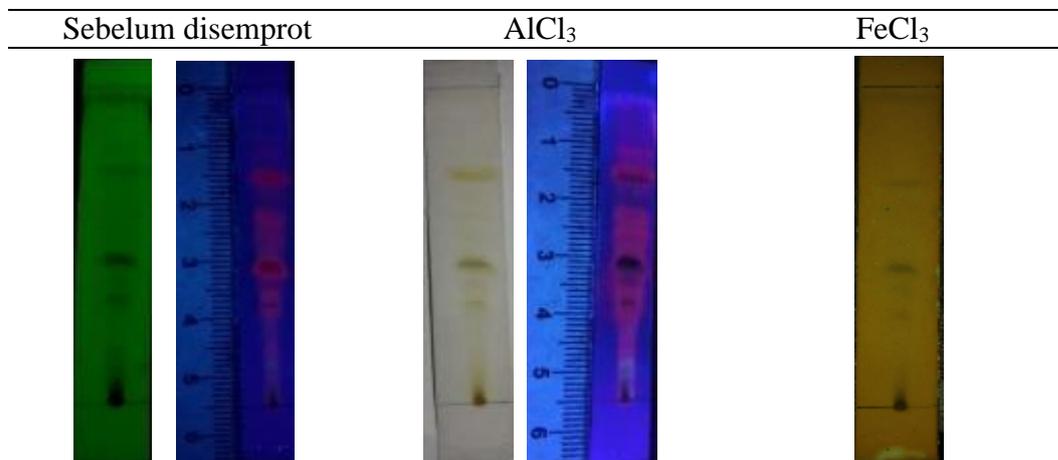
Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis oleh tumbuhan, mikroba atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital (Saifudin, 2014). Dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan antibakteri dilakukan secara kualitatif. Selanjutnya, noda yang memiliki aktivitas diidentifikasi metabolit sekundernya dengan cara disemprot dengan pereaksi Dragendorff, AlCl₃, KOH 10%, FeCl₃ 10%, dan *Liebermann-Burchard* dan diamati perubahannya. Hasil identifikasi metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi Metabolit Sekunder

Pengujian Aktivitas	Eluen (CHCl ₃ : CH ₃ OH)	Rf	Hasil
Antioksidan	7:3	0,36	Flavonoid
		0,63	Kumarin
		0,78	Kumarin
Antibakteri	9:1	0,45	Fenolik
		0,73	Flavonoid



Gambar 1. Identifikasi metabolit sekunder fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antioksidan eluen kloroform : metanol (7:3)



Gambar 2. Identifikasi metabolit sekunder fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antibakteri eluen kloroform : metanol (9:1)

Tabel 2. Aktivitas antioksidan daun nona makan sirih

Sampel uji	% Inhibisi (%)					Nilai IC ₅₀ (ppm)
	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	125 ppm	
Ekstrak etanol	14,045	31,086	48,689	66,854	84,082	76,53
Fraksi n-heksana	6,195	9,071	17,035	25,221	31,416	196,20
Fraksi etil asetat	15,879	40,832	62,193	82,231	92,249	63,83

Berdasarkan hasil identifikasi metabolit sekunder, diketahui bahwa metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (7:3) adalah senyawa flavonoid dan kumarin yang merupakan metabolit sekunder golongan fenolik. Hasil identifikasi metabolit sekunder fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 1. Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan karena dapat menyumbangkan atom hidrogen untuk menetralkan reaktivitas radikal bebas, selanjutnya radikal fenolik yang terbentuk akan distabilkan oleh delokalisasi elektron tidak berpasangan di seluruh cincin aromatiknya (Hasim, 2017). Metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (9:1) diduga adalah metabolit sekunder golongan fenolik dan flavonoid. Hasil identifikasi metabolit sekunder fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Gambar 2. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Ngajow, 2013). Mekanisme kerja fenolik sebagai antibakteri adalah dengan cara mendenaturasi dan koagulasi protein sel bakteri (Sari, 2010).

Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ini menggunakan metode peredaman terhadap radikal bebas DPPH dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi sampel yang digunakan yaitu 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, dan 125 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin besar persen penghambatannya

dan semakin kecil nilai IC_{50} nya, yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya semakin bagus. Nilai IC_{50} adalah besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%, dimana semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004). Nilai IC_{50} pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat daun nona makan sirih berturut-turut sebesar 76,53 ppm, 196,20 ppm, dan 63,83 ppm. Aktivitas antioksidan dikategorikan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat jika nilai IC_{50} 50-100 ppm, sedang jika nilai IC_{50} 100-150 ppm, dan lemah jika nilai IC_{50} 150-200 ppm (Hasim, 2017). Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun nona makan sirih memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat, sedangkan fraksi n-heksana memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong lemah. Hal ini diduga karena metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa-senyawa yang bersifat semipolar dan polar, yang banyak terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun nona makan sirih. Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan karena dapat menyumbangkan atom hidrogen untuk menetralkan reaktivitas radikal bebas, selanjutnya radikal fenolik yang terbentuk akan distabilkan oleh delokalisasi elektron tidak berpasangan di seluruh cincin aromatiknya (Hasim, 2017)

Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri daun nona makan sirih dilakukan dengan menggunakan 5 (lima) variasi konsentrasi, yaitu 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Adanya aktivitas antibakteri dalam pengujian ini ditandai dengan adanya zona bening disekitar *paper disc*. Metode uji yang digunakan yaitu metode difusi agar. Difusi adalah perpindahan zat dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi yang rendah, dalam hal ini

sampel uji yang berada di *paper disc* akan berdifusi ke medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji. Hasil uji aktivitas antibakteri daun nona makan sirih dapat dilihat pada tabel 3.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa fraksi n-heksana daun nona makan sirih tidak memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini dapat disebabkan karena n-heksana bersifat nonpolar sehingga hanya senyawa-senyawa nonpolar yang akan terdistribusi ke pelarut n-heksana, seperti steroid, klorofil dan lemak. Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat tergolong sedang sampai kuat, sedangkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol tergolong sedang, hal ini diduga karena kadar golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri lebih banyak pada fraksi etil asetat dibandingkan pada ekstrak etanol. Diameter zona bening pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* cenderung lebih besar dibandingkan diameter zona bening pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Perbedaan diameter zona bening menunjukkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun nona makan sirih lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (gram positif) daripada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (gram negatif). Perbedaan diameter zona bening disebabkan karena bakteri gram positif dan bakteri gram negatif mempunyai susunan dinding sel yang berbeda. Dinding sel bakteri gram positif hanya tersusun dari satu lapisan saja yaitu lapisan peptidoglikan yang tebal, sedangkan dinding sel bakteri gram negatif tersusun atas tiga lapisan lapisan luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan protein, dan lapisan dalam yang tersusun dari peptidoglikan (Lestari, 2017), serta dinding sel bakteri gram positif mengandung lipid yang lebih rendah daripada bakteri gram negatif (Pelczar, 2007), sehingga diduga metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri adalah golongan

metabolit sekunder yang bersifat semipolar dan polar.

KESIMPULAN

1. Golongan metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antioksidan adalah flavonoid dan kumarin. Sedangkan metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antibakteri adalah flavonoid dan fenolik.
2. Ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat daun nona makan sirih memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} berturut-turut adalah 76,53 ppm, 196,20 ppm, dan 63,83 ppm.
3. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun nona makan sirih memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan fraksi n-heksana tidak memiliki aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Ahmad, Aktsar Roskiana, dkk. 2015. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Jurnal Pharm Sci Res*. Vol. 2 No. 1.
- [2]. Djumidi. 1997. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (IV)*. Departemen Kesehatan dan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan: Jakarta.
- [3]. Hasim, dkk. 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sultur Buah Naga Putih (*Hylocereus undatus*) dengan Metode DPPH dan Rancimat. *Jurnal Gizi Pangan*. Vol. 12 No. 3. ISSN 1978-1059.
- [4]. Kusumowati, Ika Trisharyanti Dian, dkk. 2011. Korelasi Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Mete. *Jurnal Biomedika*. Vol. 3 No. 2.
- [5]. Lestari, Purwanng Budi dan Triasih Wahyu Hartati. 2017. *Mikrobiologi Brbasis Inquiry*. Gunung Samudera: Malang.

- [6]. Maulina, N. 2011. *Hubungan Kekerbatan Fenetik Tujuh Spesies dari Familia Cucurbitaceae di Kecamatan Syamtalira Aron Kabupaten Aceh Utara (Skripsi)*. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- [7]. Molyneux, P. 2004. *The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. Songklanakarin Journal Science and Technology.
- [8]. Ngajow, M, Jemmy A, Vanda S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. Vol. 2 No. 2.
- [9]. Pelczar, M dan Chan. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press: Jakarta.
- [10]. Puteri, I.T, Afghani J, dan Andi H.A. 2016. Aktivitas Antirayap Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.) Terhadap Rayap Tanah *Coptotermes* sp. *JKK*. Vol. 5 No. 2. ISSN: 23031077.
- [11]. Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish: Yogyakarta.
- [12]. Sari, Y.D, Siti, N.D, dan Laela, H.N. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona mucirata* L.) Secara In Vitro Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Jurnal Kesmas*. Vol. 4 No. 3.
- [13]. Shrivastava, N, dan Patel, T. 2007. *Clerodendrum and Healthcare: An Overview. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*. Vol. 1 No. 1.
- [14]. Tonius, J, Muhamad A.W, dan Nora I. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid Fraksi n-Heksana Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* L.). *JKK*. Vol. 5 No. 1. ISSN: 23031077.
- [15]. Utami, P. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat: 431 Jenis Tanaman Pengempur Aneka Penyakit*. AgroMedia Pustaka: Jakarta.
- [16]. Wardhani, L.K. dan Nanik S. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Vol. 2 No. 1.