

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BUAH SAWO (*Manilkara zapota*)

Alviera Rifka Mahmudyah*, Rolan Rusli, Adam M Ramadhan
*Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS Fakultas
Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur*
*email : alvierarifka@gmail.com

Abstrak

Sawo (*Manilkara zapota*) merupakan tanaman yang diketahui memiliki berbagai manfaat, yaitu salah satunya sebagai obat diare dan antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan antioksidan dari fraksi etil asetat dari kulit buah sawo. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi lalu fraksinasi sehingga diperoleh fraksi etil asetat yang kemudian diuji aktivitas antibakteri dan antioksidan dengan metode KLT bioautografi. Fraksi kulit buah sawo memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dengan berbagai perbandingan eluen heksana:etilasetat (H:E) yaitu perbandingan 2:3, 3:3, 3:4, 3:5 dan 7:3. Aktivitas antioksidan diperoleh pada eluen H:E 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, dan 5:5.

Kata Kunci : Antibakteri, Antioksidan, Sawo, KLT Bioautografi

PENDAHULUAN

Penggunaan tanaman sebagai obat telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia. Penggunaan tanaman sebagai obat diperoleh melalui pengalaman empiris secara turun temurun. Penggunaan tanaman obat secara tradisional dilakukan dengan cara direbus, dimakan langsung, ataupun diperas diambil sarinya.

Penggunaan tanaman sebagai obat tradisional memiliki beberapa keuntungan, antara lain adalah relatif lebih aman, mudah diperoleh, tidak menimbulkan resistensi, dan relatif tidak berbahaya terhadap lingkungan sekitar (Sugianti, 2005). Tanaman yang telah lama dikenal penggunaannya sebagai tanaman obat di Indonesia adalah tanaman sawo (*Manilkara zapota*). Sawo dijadikan sebagai salah satu obat alternatif dalam pengobatan diare (Rukmana, 1997).

Sifat antioksidan dan antibakteri tanaman sawo dari bagian kulit batang sawo belum dilaporkan secara ilmiah, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai sifat aktivitas antioksidan dan antibakteri dari kulit batang sawo.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi

Kulit buah sawo diambil dari tanaman utuh, dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran pada kulit. Setelah sampel dicuci dilakukan pemotongan atau perajangan sampel. Sampel kulit buah sawo dikeringkan 55 °C menggunakan oven. Simplisia kulit buah sawo yang telah diperoleh diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 2×24 jam. Ekstrak metanol yang diperoleh disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kering.

Fraksinasi

Sebanyak 10 gram ekstrak kering kulit buah sawo dilarutkan dengan 20 mL n-heksana dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer bertutup lalu distirer, kemudian disaring. Ekstrak yang tidak larut dimasukkan kembali ke erlenmeyer bertutup kemudian ditambahkan n-heksana dan distirer kembali. Proses tersebut diulang hingga larutan bening. Setelah didapatkan fraksi tersebut diuapkan pelarutnya hingga kental dan dikeringkan. Dilanjutkan proses yang sama dengan pelarut etil asetat.

Identifikasi Metabolit sekunder

Uji Alkaloid

Penampakan bercak noda pada plat KLT menggunakan pereaksi dragendroff dengan hasil positif apabila terdapat noda berwarna merah bata, jingga atau coklat (Pratiwi, 2014).

Uji Antrakuinon

Penampakan bercak noda pada plat KLT menggunakan pereaksi KOH 10% dengan hasil positif apabila terdapat noda berwarna kuning terang pada UV 366 nm (kkotakemori & Okada, 1966)

Uji Kumarin

Bercak noda pada plat KLT menggunakan pereaksi KOH 10% dengan hasil positif apabila terdapat noda berflouresensi biru pada UV 366 nm (Prabowo, 2013)

Uji Triterpen

Penampakan bercak noda pada plat KLT menggunakan pereaksi Liebermann Bouchard dengan hasil positif apabila terdapat noda berwarna ungu yang teramati pada sinar tampak, dan secara visual berwarna merah (Fransworth, 1966).

Uji Steroid

Penampakan bercak noda pada plat KLT menggunakan pereaksi Liebermann Bouchard dengan hasil positif apabila terdapat bercak noda berpendar berwarna biru pada UV 366 nm, dan secara visual terdapat noda berwarna hijau (Fransworth, 1966).

Uji Folifenol

Penampakan bercak noda pada plat KLT menggunakan pereaksi FeCl_3 10% dengan hasil positif apabila terdapat noda berwarna hitam, hijau, merah, ungu, atau biru yang kuat teramati secara visual (Harborne, 1996)

Uji Flavanoid

Penampakan bercak noda pada plat KLT menggunakan pereaksi sitoborat dengan hasil positif apabila terdapat noda berfluoresensi berwarna hijau kekuningan yang teramati pada UV 366 nm (Markham, 1982).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan membuat medium NA terlebih dahulu. Kemudian dilakukan proses sterilisasi alat dan bahan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan pembuatan biakan bakteri dengan menanam bakteri uji diatas permukaan medium NA dengan menggunakan metode agar miring yang telah memadat dalam tabung reaksi, yang kemudian diinkubasi dengan menggunakan inkubator pada suhu 37 °C selama 1×24 jam. Setelah diinkubasi dilanjutkan dengan pembuatan suspensi bakteri menggunakan NaCl 0,9% hingga diperoleh pengenceran 1:40.

Sampel ditotolkan pada plat KLT, dielusi dalam *chamber* dengan fase gerak n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 2:3, 3:3, 3:4, 3:5 dan 7:3. Plat KLT yang telah dielusi selanjutnya diamati dengan lampu UV254 nm dan UV366 nm, kemudian ditempelkan pada mediun NA yang telah diinokulasi dengan 200 µL bakteri. Media didiamkan selama 20 menit, diberi tanda pada bagian bawahnya,

lalu plat diangkat. Media diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Media diamati bila ada bercak pada plat KLT tersebut yang memiliki aktivitas antibakteri.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Sampel ditotolkan pada plat KLT, dielusi dalam *chamber* dengan fase gerak n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, dan 5:5. Eluen tersebut di jenuhkan, ekstrak tersebut kemudian dielusi hingga eluen mencapai garis batas. Setelah elusi selesai plat KLT dikeringkan dan diamati dengan lampu UV 254 nm dan UV 366 nm. Kemudian plat tersebut disemprot dengan DPPH dan dilihat noda yang aktif sebagai antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Metabolit Sekunder

Berdasarkan hasil identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder terhadap fraksi etil asetat kulit buah sawo diperoleh hasil bahwa terdeteksinya beberapa golongan senyawa metabolit sekunder, diantaranya yaitu antrakuinon, kumarin, triterpen, alkaloid, folifenol, dan flavanoid. Hasil uji metabolit sekunder dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Sawo

Golongan senyawa	Reagen	Hasil	Keterangan
Antrakuinon	KOH 10%	+	Noda berwarna kuning terang pada UV 366 nm
Kumarin		+	Noda berwarna berflouresensi biru pada UV 366 nm
Triterpen	Liebermann Bourchard	+	Noda berwarna ungu setelah dipanaskan
Steroid		-	Noda berpendar berwarna biru
Alkaloid	dragendroff	+	Noda berwarna coklat
polifenol	FeCl ₃ 10%	+	Noda berwarna hitam dan biru
Flavanoid	Sitoborat	+	Noda berwarna hijau kekuningan

Keterangan:

(+): *Teridentifikasi metabolit sekunder*

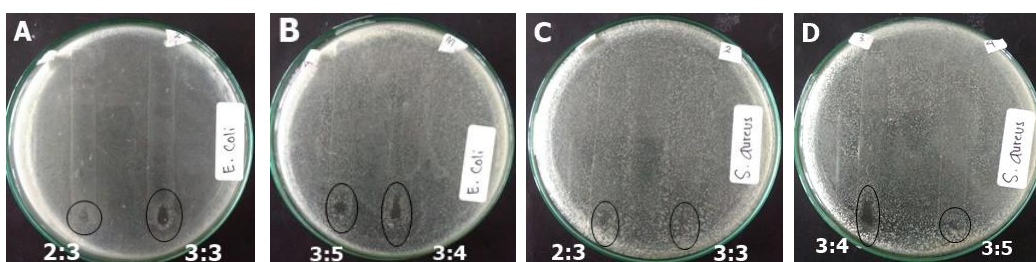
(-) : *Tidak teridentifikasi metabolit sekunder*

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etil asetat kulit buah sawo memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona bunuh dan zona hambat pada bercak plat KLT. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kulit buah sawo menunjukkan nilai Rf yang berbeda-beda pada tiap eluen terhadap beberapa bakteri seperti yang dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1

Tabel 2. Nilai Rf Zona Bunuh dan Zona Hambat Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Sawo

Perbandingan eluen (H:E)	E.coli		S.aureus	
	Zona bunuh	Zona Hambat	Zona bunuh	Zona hambat
2:3		(Rf 0,08)		(Rf 0,08)
3:3	(Rf 0,16)			(Rf 0,08)
3:4	(Rf 0,08)		(Rf 0,16)	
3:5	(Rf 0,08)			(Rf 0,08)

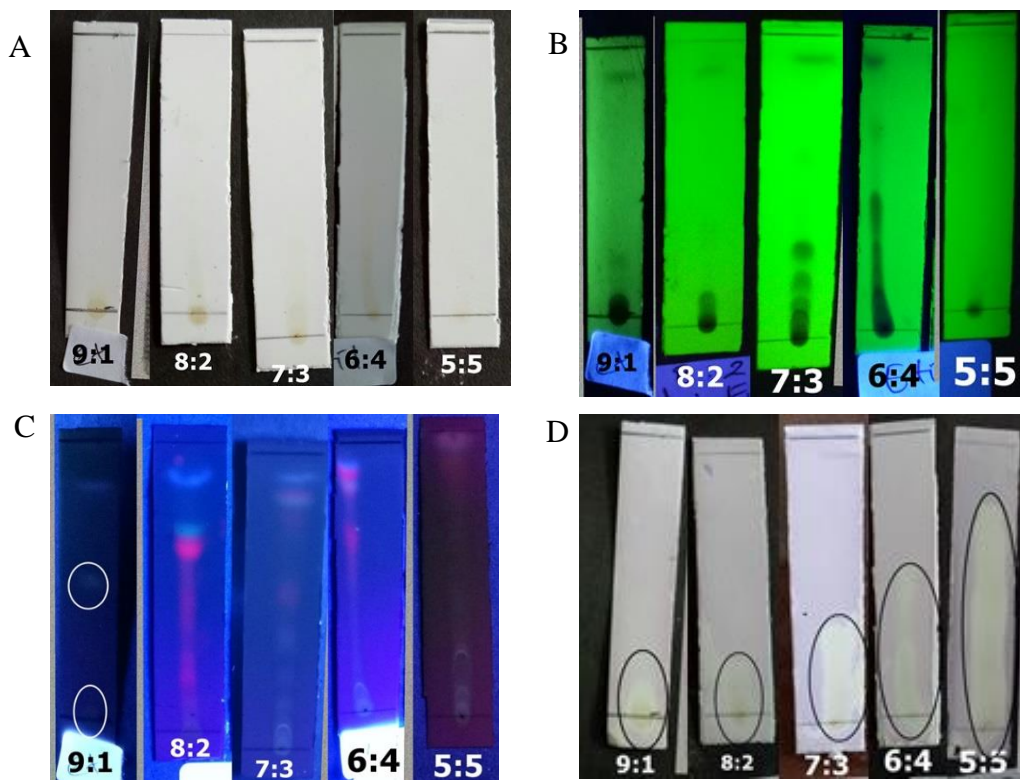


Gambar 1. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kulit Buah Sawo Terhadap Bakteri *Escherichia coli* (A eluen H:E 2:3, 3:3), (B eluen H:E 3:4, 3:5), *Staphylococcus aureus* (C eluen H:E 2:3, 3:3), (D eluen H:E 3:4, 3:5)

Aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat kulit buah sawo dimungkinkan karena adanya kandungan golongan senyawa metabolit sekunder yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri, seperti fenolik, alkaloid, dan flavanoid (Astawan, 2011 dan Ningrum, 2013).

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan senyawa dalam fraksi kulit buah sawo dilakukan menggunakan metode KLT bioautografi dengan penyemprotan menggunakan larutan DPPH. KLT merupakan teknik yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen berdasarkan distribusi komponen tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak (Khopka, 2002). Hasil pemisahan menggunakan KLT tidak terlalu jelas bila diamati secara langsung, karena larutannya tidak berwarna, oleh karena hasil pemisahan diamati di bawah sinar UV dan dapat dilihat pada gambar 2. *Spot* yang terbentuk ditandai dengan pensil atau lingkaran.



Gambar 2. (A) Hasil Pemisahan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Sawo Menggunakan Eluen Heksan:Etil Asetat Dengan Perbandingan 9:1,8:2, 7:3, 6:4, 5:5.; (B) Hasil Pemisahan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Sawo Menggunakan Eluen Heksan:Etil Asetat Dengan Perbandingan 9:1,8:2, 7:3, 6:4, 5:5 Dilihat Menggunakan Lampu UV 254 nm; (C) Hasil Pemisahan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Sawo Menggunakan Eluen Heksan:Etil Asetat Dengan Perbandingan 9:1,8:2, 7:3, 6:4, 5:5 Dilihat Menggunakan Lampu UV 366nm; (D) Hasil Pemisahan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Sawo Menggunakan Eluen Heksan:Etil Asetat Dengan Perbandingan 9:1,8:2, 7:3, 6:4, 5:5 Setelah Disemprot Dengan Larutan DPPH

Terlihat bahwa pada bagian plat yang terdapat spot hasil pemisahan menggunakan KLT, terjadi pemudaran warna ungu larutan DPPH hal ini terjadi karena adanya aktivitas antioksidan. Antioksidan yang terdapat pada fraksi etil asetat kulit buah sawo mampu bereaksi dengan radikal DPPH sehingga menyebabkan radikal tersebut berubah menjadi bentuk tereduksinya (DPPH-H) dan perubahan itulah yang menyebabkan terjadinya pemudaran warna ungu.

Fraksi etil asetat kulit buah sawo memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dikaitkan dengan adanya gugus hidroksil fenolik yang menempel pada struktur kerangkanya. Sifat antioksidan dari flavonoid berasal dari kemampuan untuk mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan juga membentuk kompleks dengan logam. Kedua mekanisme itu membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat aktivitas beberapa enzim.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi etil asetat kulit buah sawo mengandung senyawa golongan metabolit sekunder berupa antrakuinon, kumarin, triterpen, alkaloid, folifenol, dan flavanoid.
2. Fraksi etil asetat kulit buah sawo memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*.
3. Fraksi etil asetat kulit buah sawo memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Harborne, A. 1998. *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*: Springer Science & Business Media
- Khopkar SM. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik* . Jakarta: UI-Press
- Kulkarni, A.P., R.S. Policegoundra & S.M Aradhya. 2006. Chemical Compotion and Antioxidant Activity of Sapota (*Achras sapota* L) Fruit. *Journal Of Food Biochemistry* 31: 399-414
- Nelson JL, Bernstein PS, Schmidt MC, Von Tress MS, dan Askew EW. 2007. Dietary modification and moderate antioxidant supplementation defferently

- affect serum carotenoids, antioxidants level and marker of oxidative stress in older humans. *J.Nutr* 133:3177-3123
- Ningrum, prihatin. 2013. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Sawo Manila Terhadap E.coli dan Implementasinya dalam Pembelajaran Peranan Bakteri. FKIP Biologi; Universitas Tanjung Pura.
- Pratiwi, Sylvia. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. EGC. Jakarta.