

Artikel

Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata* Ait) Terhadap Beberapa Bakteri Uji

Riza Farid¹, Victoria Yulita Fitriani², Arsyik Ibrahim^{2,*}

¹ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

² Laboratorium Riset dan Pengembangan Kefarmasian "FARMAKA TROPIS", Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia; email: achie.ibrahim@gmail.com

* Correspondence: achie.ibrahim@gmail.com; Tel.: 081347912495 (A.I.)

Abstract

Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait) plant is traditional medicine used as medication for ulcer and abscess. Steroid and tanin is component of chemical compound in kamboja leaves that supposed to have antibacterial activity. This study aims to determine the content of secondary metabolites and effective concentration of methanol extracts of kamboja leaves as antibacterial. Identification contains of secondary metabolites by used reagent Mayer, Dragendorf, Liebermann-Burchard, FeCl, Mg powder and HCl. Analysis of secondary metabolites characterized by the presence of sediment or froth. The antibacterial activity test carried out by agar diffusion method. Inhibition zone is analyzed by Anava and Duncan test. Secondary metabolite the compound containing steroid and tanin. The effective concentration of 40% were significantly different with a value of $p = 0.00$ ($p < 0.05$) on the growth of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* bacteria and a concentration of 30% is very significantly different from the value of $p = 0.00$ ($p < 0.05$) on the growth of *Escherichia coli* bacteria *in vitro*.

Keywords: Antibacterial Activity, Kamboja leaves, *Plumeria acuminata* Ait, Secondary Metabolites

Abstrak

Tanaman kamboja (*Plumeria acuminata* Ait) merupakan bahan obat tradisional yang digunakan sebagai obat bisul dan infeksi pada luka. Steroid dan tanin merupakan komponen senyawa yang terdapat pada daun kamboja yang diduga sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan konsentrasi efektif ekstrak metanol daun kamboja sebagai antibakteri. Identifikasi metabolit secara kualitatif menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorf, Liebermann-Burchard, FeCl, serbuk Mg dan HCl. Analisis metabolit sekunder ditandai dengan ada tidaknya perubahan warna atau terdapatnya endapan atau buih. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar. Zona hambat dianalisis dengan Anava dan uji Duncan. Hasil uji metabolit sekunder mengandung golongan senyawa steroid dan tanin. Aktivitas antibakteri ekstrak menunjukkan konsentrasi efektif pada 40% berbeda nyata dengan nilai $p = 0.00$ ($p < 0,05$) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dan konsentrasi 30% sangat beda nyata dengan dengan nilai $p = 0.00$ ($p < 0,05$) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

Citation: Farid, R., Fitriani Y.V., Ibrahim, A. Metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kamboja putih (*Plumeria acuminata* Ait) terhadap beberapa bakteri uji. *J Riset Naturafarm* 2024, 1 (1), 15–21.

<https://doi.org/10.70392/mrvbwp06>

Academic Editor: Dr. Rolan Rusli

Received: 13 Maret 2024

Revised: 12 April 2024

Accepted: 15 Mei 2024

Publisher's Note: B-CRETA publisher stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC-BY-NC-SA) 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

ISSN: 3048-0582

Kata Kunci: Aktivitas Antibakteri, Daun Kamboja Putih, Metabolit Sekunder, *Plumeria acuminata* Ait.

1. PENDAHULUAN

Infeksi bakteri merupakan faktor utama penyebab kegagalan penyembuhan luka, [1]. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyakit yang dapat menyebabkan infeksi pada luka dan bisul, termasuk bakteri gram positif dan flora normal pada kulit dan selaput lender manusia. Bakteri *S. aureus* cepat menjadi resisten terhadap banyak zat antimikroba sehingga sering menimbulkan masalah dalam pengobatan [2].

Tanaman obat merupakan sumber utama ditemukannya senyawa kimia baru dengan efek terapeutik. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mencari tanaman obat yang dapat dimanfaatkan untuk penyembuhan luka yang disebabkan oleh infeksi atau bisul. Tanaman *Plumeria acuminata* (*Apocynaceae*) merupakan tanaman tradisional yang secara *etnomedicine* mempunyai berbagai khasiat, antara lain daunnya sebagai pencahar dan antiscabies, buah dan kulit batangnya dilaporkan berefek antiinflamasi,[3].

Antibakteri adalah Data hasil penelitian tumbuhan Kamboja menunjukkan bahwa infusa bunga kamboja memiliki aktifitas antijamur dan antibakteri, dan mengandung metabolit sekunder triterpenoid, alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin [4]. Selain itu ekstrak air daun kamboja berefek insektisida terhadap nyamuk *Aedes aegypti*, [5]. Kandungan minyak atsiri bunga kamboja dan ekstrak etanol daun berefek antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* [6].

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen penyebab penyakit diare akut yang dapat menyerang hewan dan manusia pada keadaan tertentu seperti gangguan pencernaan serta immunosupresi pada host, [7,8].

Berdasarkan data empiris dan beberapa penelitian [6,13], inilah dilakukan perluasan penelitian untuk mengetahui aktivitas daun kamboja beberapa bakteri patogen yaitu *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari ekstrak metanol yang diperoleh menggunakan metode maserasi. Sehingga dengan penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan mengenai manfaat daun tumbuhan kamboja sebagai antibakteri pada beberapa jenis bakteri patogen.

2. BAHAN, ALAT, DAN PROSEDUR PENELITIAN

2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain sampel tumbuhan daun Kamboja putih (*P. acuminata* Ait), pelarut metanol, pereaksi Dragendorf, Mayer, Lieberman-Bouchard, FeCl_3 , sitroborat, logam Mg, HCl, H_2SO_4 10%, ferri klorida 2%, amonium hidrosida 25%, kalium iodida, aquadestillata, medium nutrient agar (NA), larutan fisiologis NaCl 0,9% dan bakteri *Escherichia coli*, *Strep-tococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*.

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Maserator, rotary evaporator (Buchi), timbangan analitik (And gf 300) gelas kimia, adalah autoklaf, pompa vakum (Buchi), mikrometer skrup, cawan Petri (Pyrex/Iwaki), *paper disc*, jarum ose, LAF (*Laminar Air Flow*), oven (Memmert), water batch (Memmert), vial glass.

2.3. Prosedur

2.3.1. Penyiapan Sampel

1. Pengumpulan sampel daun kamboja putih

Sampel segar daun kamboja dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran, kemudian dikeringkan di udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung.

2. Pembuatan Ekstrak Metanol daun kamboja putih

Sampel yang telah halus sebanyak 950 g dimasukkan ke dalam wadah dan diberikan cairan penyari metanol sebanyak 6 L. Sampel direndam selama 5 hari sambil diaduk, sampai diperoleh ekstrak cair metanol. Perendaman dan penggantian pelarut dilakukan sebanyak 4 kali sampai larutan hasil rendaman menjadi jernih. Sampel disaring dan ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Selanjutnya dilakukan penguapan maksimal dalam desikator. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian ditampung.

2.3.2 Identifikasi Metabolit dan Pengujian Antimikroba

1. Identifikasi metabolit sekunder

Identifikasi kandungan kimia golongan senyawa steroid menggunakan Lieberman-Burchard, golongan alkaloid dengan pereaksi Mayer, dan Dragendorf, flavonoid menggunakan serbuk Mg dan asam klorida, uji saponin dilakukan dengan pengamatan pembentukan buih setelah pengocokkan, untuk deteksi golongan tanin dilakukan menggunakan pereaksi FeCl_3 2%.

2. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Ekstrak (metanol) dibuat konsentrasi uji berturut-turut 10%, 20%, 30% dan 40%. Selanjutnya ekstrak dilakukan pengujian aktivitas antimikrobanya berdasarkan pengamatan zona hambat/zona bening (bunuh) menggunakan metode difusi agar.

Metode difusi agar dilakukan dengan cara *paper disc* dicelupkan ke dalam masing-masing konsentrasi larutan uji daun kamboja selama 15 menit, dibiarkan sesaat, kemudian diletakkan di atas medium agar padat menggunakan pinset steril. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator. Pengamatan aktivitas antibakteri sampel uji dilakukan dengan pengamatan zona daerah hambat atau daerah bunuh, dan diukur dan dianalisis konsentrasi efektifnya dengan uji statistic Anova.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Identifikasi Metabolit Sekunder Daun Kamboja Putih

Metabolit sekunder diperoleh dari hasil identifikasi menggunakan pereaksi spesifik golongan senyawa metabolit tumbuhan. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme [12]. Sebagian besar tanaman penghasil senyawa metabolit sekunder memanfaatkan senyawa tersebut untuk mempertahankan diri dan berkompetisi dengan makhluk hidup lain disekitarnya. Pengujian metabolit sekunder dilakukan sebagai tahap awal untuk mendeteksi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam bahan alam hayati. Metabolit sekunder ekstrak metanol daun kamboja putih diidentifikasi menggunakan pereaksi kimia semprot golongan senyawa spesifik antara lain pereaksi Dragendorf dan Mayer untuk deteksi alkaloid. Lieberman Burchard, Vanilin –asam sulfat dan Asam fosfat 85% untuk deteksi terpenoid-sterol. Aluminium (III) klorida dan Sitroborat untuk deteksi flavonoid, dan Besi (III) klorida untuk deteksi polifenol. Tabel 1. menunjukkan hasil identifikasi golongan metabolit sekunder ekstrak metanol daun kamboja putih menggunakan berbagai macam pereaksi diagnostik spesifik.

Hasil identifikasi metabolit sekunder ekstrak metanol daun kamboja putih mengandung steroid dan triterpenoid, dan tanin. Menurut [3]. ekstrak metanol daun kamboja putih mengandung steroid, flavonoid, tanin, alkaloid, dan glikosida-glikosida. Perbedaan ini kemungkinan akibat pengaruh geografis dan keadaan tanah tempat tumbuh.

Reaksi positif golongan senyawa terpenoid dengan pereaksi diagnostik vanilin asam sulfat berwarna merah pada sinar visibel, Lieberman Bouchard berpendar putih, dan steroid dengan pereaksi H_3PO_4 85% berpendar warna kehijauan pada sinar UV 366 nm, [9]. Pendaran warna pada senyawa terpenoid dan steroid disebabkan reaksi ionisasi sulfat (SO_2^-) pada gugus pada atom C-4, dimana senyawa steroid mengandung gugus hidroksil (OH^-), [10, 11].

Uji golongan senyawa fenolik menggunakan pereaksi diagnostik $FeCl_3$, reaksi positif ditunjukkan dengan spot berwarna hitam, [9]. Fenolik bereaksi dengan $FeCl_3$ membentuk kompleks berwarna hitam, dimana $FeCl_3$ bereaksi dengan gugus $-OH$ aromatis, [11]. Kompleks berwarna yang terbentuk diduga sebagai besi (III) heksafenolat yang mengalami pergeseran batokromik ke arah panjang gelombang yang lebih besar, [9]. Hasil identifikasi metabolit sekunder disajikan pada Tabel 1. sebagai berikut:

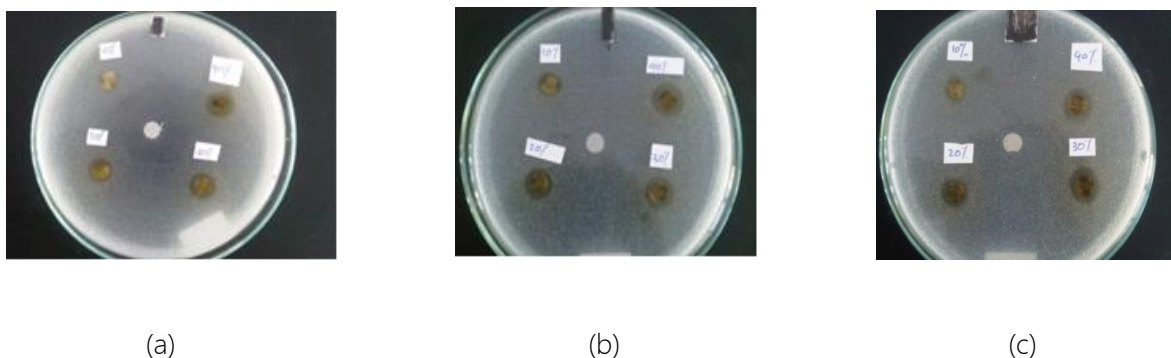
Tabel 1. Metabolit sekunder ekstrak metanol

Golongan senyawa	Reaksi	Hasil
Steroid -triterpenoid	terbentuk cincin ungu	+
Alkaloid	endapan putih, jingga	-
Flavonoid	jingga	-
Saponin	buih (stabil)	-
Polifenol/Tanin	biru kehitaman	+

Keterangan : + : terdeteksi; - : tidak terdeteksi

2. Konsentrasi Efektif Daun Kamboja Putih

Penentuan konsentrasi efektif dalam penelitian ini ditentukan dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol daun kamboja putih. Pengujian ini menggunakan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*paper disc*), konsentrasi larutan ekstrak uji berturut-turut 10%, 20%, 30% dan 40%. Kontrol negatif digunakan tween 80. Penggunaan tween 80 bertujuan untuk melarutkan ekstrak metanol daun. Kelarutan ekstrak ditambahkan tween 80. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kamboja putih memiliki aktivitas antibakteri seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



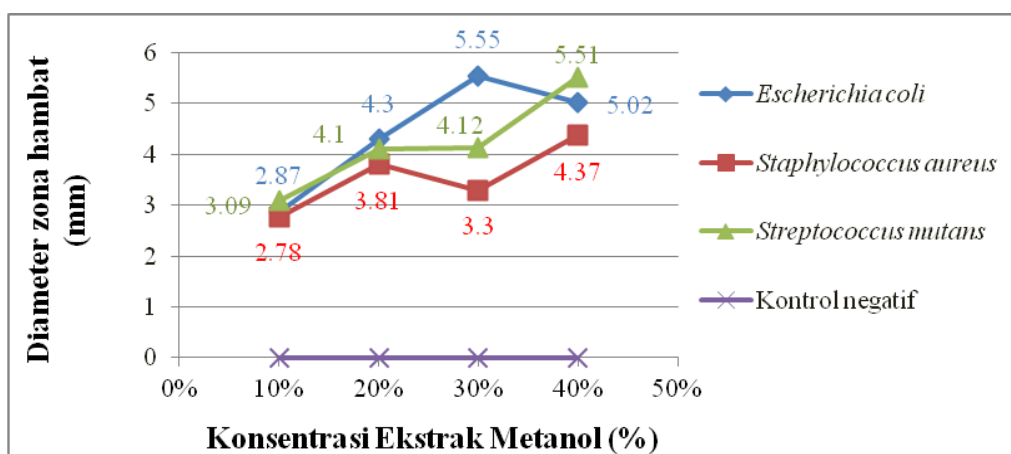
Gambar 1. Hasil pengujian aktivitas antimikroba ekstrak metanol daun kamboja putih berbagai tingkat konsentrasi terhadap bakteri: (a). *Staphylococcus aureus*; (b); *Streptococcus mutans*; dan (c) *Escherichia coli*. Keterangan gambar: A, B, C, D: Variasi Konsentrasi Uji 10%, 20%, 30% dan 40%

Berdasarkan gambar di atas terlihat adanya perbedaan diameter zona hambatan dari masing-masing konsentrasi. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh sensitivitas dari organisme uji, medium kultur dan kondisi inkubasi, kecepatan difusi antibakteri, dan konsentrasi senyawa antibakteri. Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur sehingga didapatkan rata-ratanya.

Table 2. Rata-rata zona hambat (mm) ekstrak metanol daun kamboja terhadap bakteri uji

Bakteri uji	Konsentrasi (%)			
	Rata – rata zona hambat (mm)			
	10	20	30	40
<i>Streptococcus mutans</i>	3,09	4,10	4,12	5,51
<i>Escherichia coli</i>	2,87	4,30	5,55	5,02
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,78	3,81	3,30	4,37

Rata – rata zona hambat yang ditunjukkan pada tabel Tabel. 2. di atas menunjukkan bahwa konsentrasi 40% pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dan konsentrasi 30% pada bakteri *Escherichia coli* memberikan aktivitas antibakteri berupa zona hambat yang lebih besar dari semua deret konsentrasi yang dibuat dibandingkan dengan kontrol negatif. Zona hambat yang terbentuk bersifat bakteriostatik. Diduga pada konsentrasi 40% pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Grafik yang menunjukkan perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kamboja disajikan pada Gambar 2. Berikut :



Gambar.2. Grafik zona hambat pertumbuhan bakteri uji pada ekstrak metanol pada masing-masing perlakuan

Hasil pengukuran zona hambat dianalisis menggunakan ANOVA satu arah sehingga diketahui bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun kamboja berpengaruh sangat nyata terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri uji (t -hitung > t -tabel 5% dan 1%). Hasil uji Anava menunjukkan bahwa semua konsentrasi uji mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Untuk mengetahui konsentrasi uji yang lebih efektif maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil uji Duncan diketahui bahwa semua perlakuan sangat berbeda nyata. Konsentrasi 40% sangat beda nyata dengan konsentrasi 30%, 20% dan 10% pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan konsentrasi 30% sangat beda nyata dengan konsentrasi 40%, 20% dan 10% pada bakteri *Escherichia coli*. sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi efektif pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* adalah 40% dan pada

bakteri *Escherichia coli* adalah 30%. Penghambatan disekitar pertumbuhan ditunjukkan oleh luasnya zona hambat kertas cakram. Adanya aktivitas penghambatan bakteri di sekitar kertas cakram karena ekstrak mengandung polifenol dan steroid berdasarkan analisis fitokimia (Tabel 1). Mekanisme kerja polifenol sebagai antibakteri diduga berhubungan dengan kemampuan polifenol dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Polifenol yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel karena polifenol merupakan senyawa fenol. Senyawa steroid diduga memiliki mekanisme kerja mengganggu lapisan fosfolipid (komponen lipofilik) dari membran sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sehingga terjadi kehilangan unsur penyusun sel yang berakibat pada kematian sel.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kamboja putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi 30%. Hal ini juga dimungkinkan karena adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Sehingga dimungkinkan senyawa yang ada pada daun kamboja putih berperan penting dalam penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*.

KONTRIBUSI PENULIS

Konsep: Riza Farid dan Victoria Yulita Fitriani; Metodologi: Riza Farid dan Arsyik Ibrahim; Sumber: Arsyik Ibrahim; Bahan: Riza Farid; Pengawasan: Victoria Yulita Fitriani; Menulis—meninjau dan Tulisan: Riza Farid, Telaah Kritis: Arsyik Ibrahim dan Victoria Yulita Fitriani; Editor: Arsyik Ibrahim; Koleksi Data: Riza Farid, Pencarian literatur: Riza Farid; Publikasi: Arsyik Ibrahim dan Victoria Yulita Fitriani.

PENDANAAN

(-)

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dekan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, dosen pembimbing, dosen pembahas, seluruh tenaga laboran, teman-teman saya yang telah mendukung dan memberikan saran, dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan artikel ilmiah ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam artikel ini.

REFERENSI

1. Lazarus, G.S.; Cooper, D.M.; Knighton, D.R., Margolis, D.J.; Pecoraco, R.E.; Rodaheaver, G., and Robson, M.C. Definition and Guidelines for Assessment of Wounds and evaluation of healing. *Arch. Dermatol*/1994, Vol. 130(4):489-493. Doi:10.1001/archderm.1994.01690040 093015.
2. Jawetz, E.; Melnick, J.L.; and Adelberg, E.A. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan 1986, diterjemahkan oleh Bonang G.; Edisi XVI, Jakarta: EGC Kedokteran.

3. Gupta, M.; Mazumder, U.K.; Gomathi, P.; and Selvan, V.T. Antiinflammatory evaluation of leaves of *Plumeria acuminata*. *BMC Complem. Alter.Med* 2006, Volume 6 (36): page: 1-6. Doi:10.1186/1472-6882-6-36.
4. Sari, N.K.Y.; Sintia, P.L.; Deswiniyanti, N.W.; dan Permatasari, A.A.A.P. Aktivitas Antimikroba Infusa Dan Ekstrak Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Kesehatan Terpadu* 2023, 7(1), Hal: 19 -24.
5. Utami, I.W.; Cahyati, W.H. Potensi Ekstrak Daun Kamboja Sebagai Insektisida Terhadap Nyamuk Aedes Aegypti, Higeia. *Journal of Public Health Research and Development* 2017, Hal 22-28.
6. Prihardini, Kristianingsih, I. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata* L.) terhadap *Eschericia coli*. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50, Samarinda, 20 – 21 April 2016. DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v3i2.110>
7. Mundi, N. Karakteristik Profil Resistensi Antibiotik Pada *Escherichia coli* yang Diisolasi Dari Daging Ayam yang Dijual di Beberapa Pasar di Surabaya. Tesis, Universitas Airlangga, Indonesia, 2018.
8. Goetie, I.H, Sundu,R., Supraningrum,R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (*Embelia Borneensis* Scheff) terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Metode Disc Diffusion. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2020, Vol. 4 (2), hal. 144 -155. DOI: <https://doi.org/10.33759/jrki.v4i2.260>.
9. Sutrisno, R. B. Thin Layer Chromatography Reagents 1993, Issue 1, Prints 1, Jakarta, Pancasila University.
10. Ibrahim, A., Siswandono, S., Prajogo, B.E.W. Anticancer activity of *Peronema canescens* Jack leaves extracts against human cells: HT-29 and HeLa in vitro. *Research J. Pharm. and Tech*, 2022, 15(10): 4739 – 4745. DOI: 10.52711/0974-360X.2022.00796
11. Yani, A.P, Putranto, A.M.H. Examination of the Sungkai's young leaf extract (*Peronema canescens* Jack) as an antipyretic, immunity, antiplasmodial, and teratogenicity in mice (*Mus musculus*). *International Journal of Science and Engineering*, 2014, 7(1) 4-30. DOI: 10.12777/ijse.7.1.30-34.
12. Ahmad, I., Ibrahim, A. Bioactivity methanol extract and n-hexane fraction of Sungkai leaf (*Peronema canescens* Jack) against shrimp larvae *Artemia salina* Leach. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2015, 1(3):114–9. doi: <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i3.27>
13. Putra, Hudatama,A., Wahyukundari, C.Y., Aris, M. Daya Hambat Ekstrak Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Terhadap *Streptococcus mutans*, Prosiding The 3th Dentistry Scientific Meeting Of Jember 2017.[Http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/79952](http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/79952).