

## Telaah Golongan Senyawa Antibakteri *Shigella dysenteriae* dari Ekstrak Bertingkat Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) Menggunakan Metode KLT Bioautografi

Analysis of Antibacterial Compounds *Shigella dysenteriae* from Multilevel Extraction of Red Algae (*Eucheuma Spinosum*) Using Bioautography TLC Methods

<sup>1</sup>Inge Aprianti, <sup>2</sup>Indra Topik Maulana, <sup>3</sup>Livia Syafnir

<sup>1,2,3</sup> Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari no.1 Bandung 40116

Email: <sup>1</sup> ingeaprianty@yahoo.com, <sup>2</sup> indra.topik@gmail.com, <sup>3</sup> livia.syafnir@gmail.com

**Abstract.** Guava leaf is one of the plants used as an alternative for the treatment of general diarrhea. However, treatment for diarrhea due to *Shigella dysenteriae* still uses chemical antibiotics. No found information related to natural materials used to treat diarrhea. It became the rationale for testing the antibacterial activity of natural ingredients such as red algae *Eucheuma spinosum* against bacteria *Shigella dysenteriae*. The material was extracted using a multilevel maceration method with n-hexane, ethyl acetate, and methanol as solvents. Each extract was tested for antibacterial activity using the paper disc method. The test results showed that the extract n-hexane, ethyl acetate, and methanol at all concentrations (400 ppm, 800 ppm, 1600ppm, 3200 ppm, 6400 ppm) resulted in an inhibition zone. The methanol extract of 6400 ppm concentration was known to have the highest antibacterial activity wherein the inhibition zone was produced with a diameter of 9.05 mm  $\pm$  0.21 followed by ethyl acetate extract at a concentration of 6400 ppm which produced an inhibitory diameter of 8.425 mm  $\pm$  0.74. Methanol and ethyl acetate extracts then selected for contact bioautography TLC testing. The results obtained showed the presence of spots that produces an inhibition zone on selected extracts. Then spraying was done using spotting marks. The results obtained show that the compound has antibacterial activity are flavonoids in the ethyl acetate extract. But the methanol extract has not been ascertained including certain classes of compounds because further observations needed to be carried out using other spotting appearances.

**Keywords:** Red Algae (*Eucheuma spinosum*), *Shigella dysenteriae*, TLC Bioautography.

**Abstrak.** Daun jambu merupakan salah satu tanaman yang dijadikan alternatif untuk pengobatan diare umum. Namun, pengobatan untuk diare akibat *Shigella dysenteriae* masih menggunakan antibiotika kimia. Belum ditemukan informasi terkait bahan alam yang digunakan untuk mengatasi diare tersebut. Hal tersebut menjadi dasar pemikiran untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri bahan alam berupa alga merah *Eucheuma spinosum* terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Bahan diekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana, etilasetat, dan metanol. Setiap ekstrak diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram kertas. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana, etilasetat, dan metanol pada semua konsentrasi uji (400 ppm, 800 ppm, 1600ppm, 3200 ppm, 6400 ppm) menghasilkan zona hambat. Ekstrak metanol konsentrasi 6400 ppm diketahui memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dimana dihasilkan zona hambat dengan diameter 9,05 mm  $\pm$  0,21 yang diikuti ekstrak etilasetat pada konsentrasi 6400 ppm yang menghasilkan diameter hambat sebesar 8,425 mm  $\pm$  0,74. Ekstrak metanol dan etilasetat selanjutnya dipilih untuk diujikan KLT bioautografi kontak. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya bercak yang menghasilkan zona hambat pada ekstrak terpilih. Selanjutnya dilakukan penyemprotan menggunakan penampak bercak. Hasil yang diperoleh menunjukkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu flavonoid pada ekstrak etilasetat. Tetapi pada ekstrak metanol belum dipastikan termasuk golongan senyawa tertentu karena perlu dilakukan pengamatan lebih lanjut menggunakan penampak bercak lainnya.

**Kata Kunci:** Alga Merah (*Eucheuma spinosum*), *Shigella dysenteriae*, KLT Bioautografi.

### A. Pendahuluan

Diare masih menjadi masalah secara global dengan kematian yang tinggi terutama di negara berkembang dan

menjadi salah satu penyebab kematian pada anak-anak di dunia. Disentri merupakan penyakit diare akut yang disebabkan oleh kuman *Shigella dysenteriae*. Disentri yang terjadi pada

anak-anak merupakan masalah serius karena manifestasinya cukup berat akibat komplikasi yang dapat menyebabkan kematian (Zukifli dkk, 2012). Gejala disenteri yang terjadi diantaranya adalah nyeri abdomen, demam, BAB berdarah, dan feses berlendir (Zein, dkk 2004). Pemilihan untuk pengobatan disentri biasa menggunakan antibiotik seperti *Kotrimoksazole*, *tinidazole* atau *metronidazole* (Wingate D,2001).

Bahan alam untuk mengatasi disentri hingga saat ini masih jarang digunakan. Penggunaan alga sebagai antibakteri telah banyak dilakukan penelitiannya dan menghasilkan hasil yang positif. Salah satunya yaitu alga merah (*Rhodophyceae*). Selama ini alga merah jenis *Eucheuma spinosum* hanya ditujukan untuk mengetahui tingkat kualitas karagenan saja, sedangkan kemampuannya sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen penyebab disentri pada manusia masih kurang dilakukan. Padahal alga merah merupakan organisme laut yang dapat menyediakan sumber bahan alam dengan jumlah yang melimpah. Demi mempertahankan diri didalam habitatnya, alga merah memproduksi berbagai senyawa yang terdiri dari senyawa *primer* (fikokoloid, vitamin, asam lemak tak jenuh dan karbohidrat) dan senyawa *sekunder* (terpen) (Afariman,2013).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak alga merah (*Eucheuma spinosum*) terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Shigella dysenteriae*, serta mengetahui kandungan senyawa dari ekstrak alga merah (*Eucheuma spinosum*) yang berkhasiat sebagai antibakteri.

## B. Landasan Teori

### Alga Merah (*Eucheuma spinosum*)

*Eucheuma spinosum* mempunyai *thallus* yang berwarna

kuning kecoklat-coklatan hingga merah keungu-unguan, bercabang-cabang tidak beraturan dan berbentuk agak pipih. Percabangan pada genus ini ada dua (*dichotome*) atau tiga (*trichotome*) buah. Secara morfologi ciri khusus *Eucheuma spinosum* memiliki duri-duri yang tumbuh berderet dan melingkari *thallus* dengan jarak yang bervariasi sehingga terbentuk ruas-ruas *thallus* diantara lingkaran duri. Percabangan berselang-seling dan teratur pada deretan duri merupakan perpanjangan dari duri tersebut. Ujung percabangan mudah melekat pada substrat (Wahyuni,2016 : 22).

Klasifikasi alga merah (*Eucheuma spinosum*) yaitu :

Kerajaan : Algae

Divisi : Rhodophyta

Kelas : Florideophyceae

Bangsa : Gigartinales

Suku : Solieracea

Marga : *Eucheuma*

Jenis : *Eucheuma spinosum* (Guiry, M.D. dan Guiry, G.M, 2012).

*Eucheuma spinosum* diketahui sebagai sumber bioaktif metabolit sekunder. Dalam bidang farmasi, senyawa bioaktif ini digunakan secara luas. Beberapa zat bioaktif yang diisolasi dari alga merah diantaranya termasuk alkaloid, diterpenoid, quinines, poliketida, phlorotannins, peptida siklik, polisakarida, sterol, gliserol dan lipid (Srikong dkk, 2015: 40 dalam Wahyuni,2016 : 26). Golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak petroleum eter alga merah *Eucheuma spinosum* yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan asam askorbat (Wahyuni,2016 : 26)

### Bakteri *Shigella dysenteriae*

*Shigella dysentriae* termasuk bakteri *Gram negatif*, berbentuk batang atau kokus, tidak *berflagel*, tidak berspora, dan *fakultatif anaerob*. Pada manusia menyebabkan *disentri basiler*

dengan masa inkubasi 1-7 hari. Bentuk koloni dari *Shigella dysenteriae* konveks, bulat, transparan dengan tepi yang utuh dan mencapai diameter kira-kira 2 mm dalam 24 jam (Shrotriya, 2015 dalam Rahmawati, 2018 : 21).

Bakteri *Shigella dysenteriae* diklasifikasikan menjadi :

Kerajaan : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Bangsa: Enterobacteriales

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : *Shigella*

Jenis : *Shigella dysenteriae*

(Garrity et al., 2005; ITIS,2019)

### C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Penapisan fikokimia serbuk simplisia kasar dan ekstrak meliputi pemeriksaan senyawa alkaloid, flavonoid, polifenolat, saponin, tanin, antrakuinon, steroid/triterpenoid, monoterpen dan sesquiterpen. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada simplisia terdeteksi adanya senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid, sedangkan pada ekstrak N-heksana, etil asetat, metanol terdeteksi senyawa alkaloid, flavonoid, monoterpen dan sesquiterpen serta steroid.

**Tabel 1.** Hasil Penapisan Fikokimia Alga Merah

Senyawa	Simplisia	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol
Alkaloid	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Polifenolat	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	-
Tanin	-	-	-	-
Antrakuinon	-	-	-	-
Monoterpen dan Sesquiterpen	-	+	+	+
Triterpenoid dan Steroid	Steroid	Steroid	Steroid	Steroid

**Keterangan :** (+) = Terdeteksi, (-) = Tidak terdeteksi

Untuk pengujian parameter standar spesifik dan non spesifik dapat dilakukan pemeriksaan karakteristik yang meliputi pengujian organoleptis, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar air, susut pengeringan. Pemeriksaan ini untuk menjamin agar simplisia yang diteliti memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Hasil karakteristik simplisia dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 2.** Hasil Pemeriksaan Organoleptis Simplisia Alga Merah

No.	Pengamatan	Hasil
1	Bentuk	Serbuk Kasar
2	Warna	Merah
3	Bau	Tidak Berbau

**Tabel 3.** Hasil Pengamatan Parameter Standar

No.	Parameter Standar	%Rata-rata Kadar
1.	Kadar Sari Larut Air	15,839% ± 0,046
2.	Kadar Sari Larut Etanol	12,303% ± 0,00045
3.	Kadar Air	6,167% ± 0,01
4.	Susut Pengeringan	41,697% ± 0,01
5.	Kadar Abu Total	23,443% ± 0,01
6.	Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,776% ± 0,003

Untuk mendapatkan ekstrak dari alga merah *Eucheuma spinosum* maka dilakukan proses ekstraksi. Simplisia alga merah yang digunakan untuk proses ekstraksi sebanyak 1 kg, kemudian dilakukan ekstraksi bertingkat menggunakan metode maserasi dengan tiga pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu n-heksana, etilasetat, dan metanol, sehingga diperoleh ekstrak n-heksana, etilasetat, dan metanol. Metode yang dipilih adalah maserasi. Metode tersebut digunakan karena menggunakan peralatan yang sederhana. Ekstraksi bertingkat bertujuan untuk memperoleh ekstrak yang sudah terpisah berdasarkan kepolarannya ditahap awal, sehingga dapat mempermudah pemisahan dan pengujian selanjutnya. Setelah itu ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dengan *Rotary Vacuum Evaporator*. Didapatkan ekstrak kental n-heksana sebanyak 38,8382 g dengan rendemen 3,88% ; etil asetat sebanyak

4,6091 g dengan rendemen 0,46% ; dan metanol sebanyak 79,744 g dengan rendemen 7,9744%.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode cakram kertas dan bakteri yang digunakan adalah *Shigella dysenteriae*. Dalam metode ini dibuat larutan seri dengan konsentrasi dari setiap ekstrak, konsentrasinya yaitu 400 ppm ; 800 ppm ; 1600 ppm ; 3200 ppm ; 6400 ppm. Kontrol positif yang digunakan yaitu *kotrimoksazole*, antibiotik tersebut merupakan kombinasi dari *sulfametoksazole* dan *trimetoprim* yang berkerja pada dua tahap yang berurutan pada reaksi enzimatis untuk pembentukan asam tetrahidrofolat. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ketiga ekstrak yang diujikan tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Dapat dilihat pada tabel berikut pada **Tabel 4:**

**Tabel 4.** Hasil Pengujian Aktivitas Ekstrak Bertingkat Alga Merah

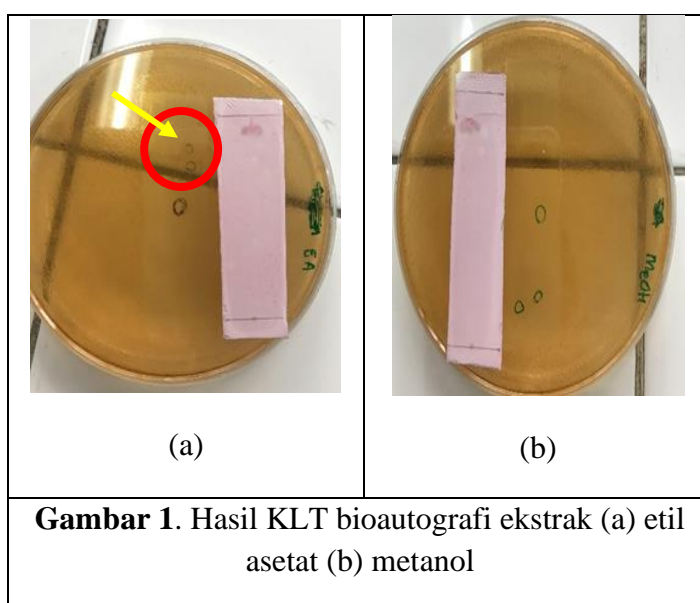
No	Sampel	Diameter Hambat Rata-rata (mm)					Kotrimoksazole	Etanol 96%
		400 ppm	800 ppm	1600 ppm	3200 ppm	6400 ppm		
1.	Ekstrak n-heksana	7,7±0,07	7,3±0,63	8,875±0,10	8,4±0,42	8,25±0,70	18,005±1,75	7,025±0,62
2.	Ekstrak Etilasetat	7,775 ± 0,10	7,3±0,63	7,85±0,14	8,3±0,63	8,425±0,74	18,005±1,75	7,025±0,62
3.	Ekstrak Metanol	8,8 ± 0,07	7,8±0,07	7,25±0,07	8,35±0,63	9,05±0,21	18,005±1,75	7,025±0,62

**Keterangan :** Pengujian dilakukan duplo menggunakan cakram kertas 6 mm.

Pada tabel melihat bahwa ekstrak metanol pada konsentrasi 6400 ppm menghasilkan diameter zona hambat paling besar yaitu sebesar 9,05 mm ± 0,21 yang diikuti ekstrak etilasetat pada konsentrasi 6400 ppm yang menghasilkan diameter hambat sebesar 8,425 mm ± 0,74. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*

Kemudian dilakukan pemantauan KLT menggunakan perbandingan eluen N-heksan : etil asetat (4:1) untuk ekstrak N-heksan, kloroform : aseton (1:2) untuk ekstrak metanol, dan menggunakan perbandingan eluen kloroform : etil asetat (2:3) untuk ekstrak etil asetat.

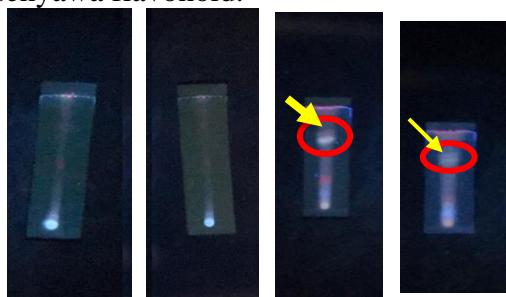
Kemudian terhadap ekstrak terpilih yaitu etilasetat dan metanol dilakukan pengujian bioautografi kontak. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya bercak yang menghasilkan zona hambat pada ekstrak terpilih. Hasil bioautografi ekstrak etil asetat dan metanol dapat dilihat pada **Gambar 1**.



**Gambar 1.** Hasil KLT bioautografi ekstrak (a) etil asetat (b) metanol

Selanjutnya dilakukan pemantauan dengan bantuan penampak bercak. Dari hasil pengamatan dengan menggunakan penampak bercak pada ekstrak metanol setelah disemprot tidak memberikan perubahan warna pada bercak hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol yang diduga memiliki aktivitas antibakteri paling besar tetapi setelah dilakukan pemisahan dengan KLT justru memberikan penurunan aktivitas antibakteri. Sedangkan pada ekstrak etilasetat setelah disemprot dengan  $AlCl_3$ , terjadi perubahan warna dari bercak merah muda menjadi warna kuning terang. Maka dari itu dapat disimpulkan bahwa bercak yang berada area atas pada kromatogram hasil elusi KLT yang juga memiliki aktivitas

antibakteri dengan menghasilkan zona bening pada media bakteri adalah senyawa flavonoid.



(a) (b) (c) (d)

**Keterangan :** (a) Hasil elusi KLT ekstrak metanol sebelum penyemprotan penampak bercak  $\text{AlCl}_3$ , (b) Hasil elusi KLT ekstrak metanol sesudah penyemprotan penampak bercak  $\text{AlCl}_3$ , (c) Hasil elusi KLT ekstrak etilasetat sebelum penyemprotan penampak bercak  $\text{AlCl}_3$ , (d) Hasil elusi KLT ekstrak etilasetat sesudah penyemprotan penampak bercak  $\text{AlCl}_3$ .

#### D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak bertingkat alga merah *Eucheuma spinosum* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*. Senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu flavonoid pada ekstrak etil asetat. Tetapi senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak metanol belum dapat dipastikan termasuk golongan senyawa tertentu setelah dilakukan pengamatan dengan berbagai penampak bercak seperti  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$ , dan dragendorff.

#### E. Saran

Disarankan bahan yang digunakan berasal dari budidaya supaya kandungan senyawa kimianya lebih beragam. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang senyawa lain yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* menggunakan perekasi penampak

bercak lain dan juga dapat dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap aktivitas lain.

#### Daftar Pustaka

- Garrity, G. M., Bell, J. A. dan Lilburn, T. G., 2004, Taxonomic Outline of The Procaryotes: Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, 2nd ed, New York, Release 5,0 Springer-Verlag, p. 46.
- Guiry, M.D. dan Guiry, G.M. 2012. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org> ; akses 17 Januari 2019.
- Wahayuni,sri. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Alga Merah *Eucheuma spinosum* Asal Perairan Galesong Kabupaten Takalar Terhadap Bakteri *Salmonella thypi* dan *Bacillus subtilis* [Skripsi]. Makassar (ID): Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Fattah, Afhariman. 2013. *Efektifitas Alga Merah Eucheuma spinosum Sebagai Antibakteri Patogen Pada Organisme Budidaya Pesisir dan Manusia* [Skripsi]. Makassar(ID) : Program Studi Pengelolaan Lingkungan Hidup Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin.
- Rusmiati. 2010. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss) [Skripsi]. Makassar(ID):Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Shrotriya, A. 2015. An Introduction To Shigellosis And Strategies Against Potent Drug.

*International Journal Of  
Pharmacy & Life Sciences.* 6 : 8-  
9.

Wingate D., S.F.Phillips, S.J. Lewisa,  
J.R. Malagelada, P. Speelman R.  
Steffen, et al., 2001.  
*Guidelines for Adults on Self-  
Medication for the Treatment of  
Acute Diarrhoea, Blackwell  
Science Ltd*, vol (15) : 773-782.

Zein, Umar,dkk. 2004. Diare Akut  
Disebabkan Bakteri. *eJournal  
Universitas Sumatera  
Utara*