

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DARI EKSTRAK TERAKTIF DAUN JENKOL (*Pithecollobium labatum* Benth) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Bida Cincin Kirana

Program Studi Farmasi Diploma Tiga (Kampus Kota Madiun) – Fakultas Vokasi
Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

E-Mail: vida.cincin.kirana@ukwms.ac.id

ABSTRACT

This research aimed to know the antibacterial activity of n-hexane, ethyl acetate, and methanol extracts from the jengkol leaf, which was the most active extract in inhibiting Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 bacteria; to know the fractions from most active extract of jengkol leaf which had antibacterial activity against Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853; and to know inhibitory zone broad and the class of compounds contained in most active fraction from most active extract which had antibacterial activity. Maceration of jengkol leaf extract with the soxhlet method in a phased used n-hexane, ethyl acetate, and methanol solvent. The most active extract and fraction were tested for its antibacterial activity using the diffusion method. The most active extract was conducted separation by vacuum column chromatography which eluted gradiently with a solvent of increasing polarity. The separation results were monitored by thin-layer chromatography with the stationary phase of silica gel GF-254 and the mobile phase of chloroform: methanol (2:8). The most active fraction was identified for its chemical content. The research results obtained ethyl acetate extract of jengkol leaf had the greatest antibacterial activity against Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 compared with n-hexane and methanol extract. The most active fraction namely fraction IV, had average inhibitory diameter of 11,33 mm (3000 ppm); 13,33 mm (5000 ppm); 15,33 mm (7000 ppm). The class of chemical compounds contained in fraction IV were flavonoids and saponins.

Keywords: *Jengkol leaf (Pithecollobium labatum Benth), Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, diffusion.*

A. Pendahuluan

Beragam jenis tumbuhan di Indonesia dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Salah satu yang digunakan adalah tanaman jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth). Bagian tanaman yang digunakan secara tradisional adalah daun dan kulit buah. Daun jengkol berkhasiat sebagai obat kudis, bisul, dan juga obat sakit kulit, sedangkan kulit buahnya untuk borok (Hutapea, 1994). Dalam daun jengkol terdapat kandungan kimia, yaitu flavonoid, tanin, dan saponin. Kandungan flavonoid dapat digunakan sebagai antibakteri. Flavonoid juga mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan, serta berkhasiat sebagai penghambat bakteri (Robinson, 1995).

Indonesia termasuk negara dengan iklim tropis yang menyebabkan mudahnya pertumbuhan bakteri dan jamur. Pertumbuhan bakteri dapat menimbulkan penyakit kulit atau infeksi pada manusia. Salah satu faktor penyebab terjadinya penyakit kulit adalah pola hidup yang kurang bersih. Penyakit kulit, seperti kudis, bisul, dan borok dapat disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, atau juga *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri penghasil nanah dan terdapat pada kulit, kelenjar kulit, dan selaput lendir. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri Gram negatif, dapat menyebabkan 10-20% infeksi nosokomial, infeksi pada saluran pernafasan bawah, saluran kemih, mata, dan lain-lain. Bakteri ini dapat diisolasi dari penderita neoplastik luka, luka bakar yang berat, dan juga penyakit metabolik (Jawetz *et al.*, 1986).

Berdasarkan penelitian Anita (2009) ekstrak etil asetat daun jengkol memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada Konsentrasi Bunuh Minimum 3,13% menggunakan metode dilusi. Hasil identifikasi kualitatif dari daun jengkol mengandung golongan saponin, flavonoid, dan tanin. Hasil ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat, dilakukan pengujian secara Kromatografi Lapis Tipis untuk mengetahui senyawa yang tersari oleh etil asetat yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, golongan yang tersari dalam etil asetat tersebut adalah flavonoid. Ekstrak daun jengkol mengandung berbagai macam komponen senyawa kimia yang diperkirakan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Ekstrak yang teraktif perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut untuk mengetahui fraksi aktif yang lebih berperan sebagai antibakteri. Pemisahan dilakukan dengan cara kromatografi kolom vakum, dengan proses pemisahannya divakum, sehingga prosesnya berjalan cepat. Pengemasan kromatografi kolom dilakukan dengan cara *dry packing* dan *wet packing*. Kelebihan kromatografi kolom vakum adalah memisahkan senyawa ekstrak dalam jumlah lebih banyak dan menggunakan vakum sehingga mempercepat elusi (Hostettmann *et al.*, 1995; Sudjadi, 1988).

Penentuan uji aktivitas antibakteri melalui metode difusi. Keuntungan metode difusi adalah dapat dengan mudah menentukan potensi antibakteri dengan mengukur diameter zona radikal dan zona irradikal dibanding dengan metode dilusi yang pengamatannya sulit karena warna ekstrak sangat berpengaruh (Jawetz *et al.*, 1986).

B. Tinjauan Pustaka

1. Jengkol

Jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) merupakan tanaman yang termasuk dalam divisi spermatophyta, genus *Pithecollobium*. Di Sumatera tanaman jengkol sering disebut dengan jering, sedangkan di Bali dikenal dengan sebutan blandingan, berbeda di daerah Sulawesi, tanaman ini dikenal dengan sebutan lubi (Hutapea, 1994).

Morfologi tanaman jengkol adalah pohon setinggi 5 - 15 m, ranting menggantung, daunnya tersebar kerap kali sempurna menyirip rangkap atau terbilang daun rangkap. Daun penumpu ada atau tidak ada, kadang-kadang seperti

duri. Tangkai daun utama dan poros sirip dengan 1 kelenjar atau lebih dan berambut. Bunga beraturan, berbilang 5. Bakal buah hampir selalu menumpang, beruang 1, berambut, bertangkai, berwarna merah. Polongan bentuk bulat silindris, membuka atau tidak atau rontok per ruas. Biji satu sampai banyak.

Daun jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) mempunyai khasiat sebagai obat eksim, kudis, bisul, luka dan juga obat sakit kulit lainnya, kulit buahnya untuk borok. Biji, kulit, batang, dan daun jengkol mengandung flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid (Hutapea, 1994).

2. Kromatografi

Kromatografi merupakan teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan perambatan komponen dalam medium tertentu. Metode pemisahan dengan kromatografi, adanya komponen yang akan dipisahkan antara dua buah fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam akan menahan komponen campuran dan tidak boleh larut dalam fase geraknya. Contoh fase diam, antara lain silika gel, alumunium, arang, dan selulosa. Fase gerak dapat berupa pelarut tunggal atau berupa campuran pelarut dengan komposisi tertentu. Pelarut dapat merupakan pelarut polar maupun pelarut nonpolar (Sastrohamidjojo, 2001). Kromatografi ada 2, yaitu:

a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan dan uji senyawa kimia secara kualitatif dan kuantitatif. Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa tunggal maupun campuran dari produk pabrik, hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan, tanaman maupun mikroorganisme (Harborne, 1987). Terdapat 2 fase dalam KLT yang pertama fase diam yang merupakan lapisan yang dibuat dari bahan-bahan berbutir halus yang ditempatkan pada lempengan. Sifat-sifat umum dari penyerap KLT adalah ukuran partikel dan homogenitasnya. Ukuran partikel yang biasa digunakan adalah 1-25 mikron. Adapun macam-macam fase diam adalah silika gel, alumina, selulosa, resin, kieselgur, magnesium silikat (Harborne, 1987).

Fase kedua adalah fase gerak merupakan media angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Fase ini bergerak di dalam fase diam karena adanya gaya kapiler. Contoh fase gerak, antara lain heksana, toluen, eter, kloroform, aseton, etil asetat, asetonitril, etanol, metanol, air. Tahapan dalam KLT ada 2, yaitu pengembangan atau elusi. Pengembangan ialah proses pemisahan campuran cuplikan akibat pelarut pengembang merambat naik dalam lapisan fase diam. Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan R_f atau hR_f . Harga R_f antara 0-1.

Keuntungan Kromatografi Lapis Tipis antara lain: dapat digunakan untuk menganalisis kualitatif dan kuantitatif, identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan peraksi warna, fluorescensi atau radiasi UV (Sudjadi, 1988). Proses pemisahan zat relatif cepat, ketepatan penentuan kadar lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tak bergerak, sehingga hasil pemisahannya lebih mudah dilihat dan diisolasi (Voight, 1995). Kromatografi Lapis Tipis dapat dideteksi dengan berbagai cara, yaitu secara fisika dengan menggunakan

sinar UV 254 dan 366, secara kimia pereaksi penyemprot dengan menggunakan uap yodium, asam sulfat pekat, campuran asam sulfat dengan kalium bikromat atau dengan asam nitrat (Sudjadi, 1988).

b. Kromatografi Kolom

Kromatografi yang menggunakan kolom sebagai alat untuk memisahkan komponen-komponen dari campurannya. Pemisahan kromatografi kolom didasarkan pada adsorpsi komponen-komponen campuran dengan afinitas berbeda-beda terhadap permukaan fase diam. Adsorben (alumina, bauksit, magnesium silikat, silika gel) bertindak sebagai fase diam yang sifatnya tidak larut dalam fase cair. Fase geraknya adalah cairan yang mengalir membawa komponen campuran sepanjang kolom (Voight, 1995). Kromatografi kolom dibagi menjadi dua macam, yaitu kromatografi kolom biasa dan kromatografi kolom vakum.

Kromatografi kolom biasa digunakan untuk memisahkan senyawa dengan jumlah ekstraksi sedikit, ekstraksinya berdasarkan gravitasi, sehingga berjalan lebih lama. Pengemasan adsorben yang akan dimasukkan ke dalam badan kolom dengan pengemasan kering atau pengemasan basah (yang dibuat seperti bubur dengan menggunakan pelarut, dan bubur tersebut dibuat $\frac{3}{4}$ bagian dari panjang kolom). Kromatografi kolom vakum biasanya digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa dengan ekstrak yang jumlahnya banyak, menggunakan vakum sehingga elusinya lebih cepat, pengemasan adsorben untuk dimasukkan badan kolom dalam keadaan kering. Pengemasan dalam kromatografi kolom dibedakan menjadi dua macam, yaitu: pengemasan kering dilakukan dengan cara silika kering dimasukkan ke dalam kolom setelah itu dielusai sampai mengembang. Pengemasan basah dilakukan dengan cara silika dicampur eluen sampai menjadi bubur kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Elusi yang sering digunakan dalam kromatografi kolom adalah: elusi secara gradient, yaitu elusi yang menggunakan beberapa macam pelarut yang polaritasnya bervariasi semakin meningkat atau berkurang tergantung fase normal atau fase balik, sedangkan elusi secara isokratik yaitu dengan menggunakan pelarut yang polaritasnya tetap dari awal elusi sampai akhir (Hostettmann *et al.*, 1995).

3. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang merupakan bakteri Gram negatif aerobik. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 berukuran 0,5–1,0 x 3,0–4,0 μm , berbentuk batang dengan motilitas unipolar dan umumnya mempunyai flagel. Bila tumbuh pada pembenihan tanpa sakarosa terdapat lapisan lendir polisakarida ekstraseluler, strain yang diisolasi dari bahan klinik sering mempunyai pili untuk perlekatan pada pemakaian sel dan memegang pengaruh penting dalam resistensi terhadap fagositosis (Jawetz *et al.*, 2005).

Bakteri ini umumnya dapat menyebabkan penyakit pada hewan dan manusia. Banyak ditemukan dalam tanah, air, flora, kulit, dan sebagian besar terdapat di lingkungan di seluruh dunia. Infeksi akibat dari bakteri ini mempunyai gejala-gejala, seperti peradangan dan sepsis (Jawetz *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* adalah satu-satunya species yang menghasilkan Piosianin yaitu pigmen berwarna hijau

kebiruan yang dapat larut dalam air dan kloroform, mempunyai antijasad renik, serta berfluoresensi (Suryono, 1995).

Pseudomonas aeruginosa dapat terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda, kadang-kadang dalam rantai pendek, membentuk koloni bulat dan halus. Beberapa galur menghasilkan pigmen merah gelap piorubin atau pigmen hitam piomelanin (Jawetz *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* dapat termasuk proteolitik dan lipolitik. Tipe proteolitik mampu merombak kasein menjadi peptida yang diuraikan lebih lanjut menjadi asam amino. Pada tipe lipolitik dapat menghidrolisis susu dan lemak menjadi gliserol dan asam lemak yang menyebabkan tengik (Pelczar *et al.*, 1986).

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi pada luka bakar, menghasilkan nanah warna hijau biru, meningitis jika masuk melalui fungsi lumbal, dan infeksi saluran kencing jika masuk melalui kateter dan instrumen atau karena larutan irigasi. Penyerangan pada saluran napas, khususnya respirator yang tercemar, mengakibatkan pneumonia nekrotika (*necrotizing pneumonia*), selain itu juga dapat menyebar melalui darah, sehingga menyebabkan endokarditis bakterialis dan gastroenteritis. Infeksi jaringan kornea dapat menyebabkan kebutaan. Infeksi lokal kuman ini dapat menyebar melalui darah, sehingga menyebabkan septisemia dan lesi fokal pada jaringan lain. Pada septisemia angka kematian dapat mencapai 80% (Jawetz *et al.*, 2005).

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Anti bakteri yaitu suatu zat yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan dari bakteri. Suatu zat antibakteri dengan interaksi dengan bakteri dapat bersifat bakteriostatik (hanya menghambat) atau dapat bersifat bakterisid (membunuh bakteri). Perbedaan kedua sifat tersebut terutama didasarkan pada dosis yang digunakan. Banyak obat antibakteri memiliki efek yang mematikan terhadap bakteri secara *in vitro*, tetapi dapat cepat pula mengubahnya menjadi resisten terhadap kebanyakan obat untuk bekerja melawan infeksi oleh bakteri (Syarif *et al.*, 1995). Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas selektif, berarti obat antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri, tetapi relatif tidak membahayakan hospes (Pelczar *et al.*, 1986). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam 5 kelompok, yaitu: mengganggu metabolisme dinding sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri (Ganiswarna *et al.*, 1995).

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap cairan badan dan jaringan, dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi yang dikenal (Jawetz *et al.*, 1986).

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang

mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas anti mikroba berdifusi pada lempeng agar *Muller Hinton* yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat anti mikroba (Harminta, 2004).

5. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah, pertama ekstrak teraktif (etil asetat) dapat menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Kedua, fraksi-fraksi dari ekstrak teraktif daun jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Ketiga, fraksi aktif daun jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) dengan konsentrasi tertentu memberikan efek antibakteri yang paling baik terhadap bakteri uji.

C. Metode Penelitian

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat timbang analisis yang mempunyai ketelitian baca minimum 0,1 mg dan daya muat maksimum 100 gram, entkas, ayakan nomor 60, piring petri, flakon, tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes, neraca analitis, batang pengaduk, volume pipet (10 ml; 5 ml; 1ml; 0,5 ml), siring, pinset, inkubator, kertas saring, corong kaca, autoclave, inkubator, penangas air, seperangkat alat soxhlet, Sterling-Bidwell, pembakar spiritus, kassa, boor prop, kapas lidi steril, kaki tiga, selang, corong kaca, seperangkat alat kromatografi kolom vakum.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) yang diambil dari daerah Ambarawa, Semarang, Jawa Tengah. Bakteri uji yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Medium yang digunakan adalah *Muller Hinton Agar (MHA)*, *Pseudomonas selektif Agar (PSA)*, Media Klinger Iron Agar (KIA), Media Lysin Iron Agar (LIA), Media Sulfide Indole Motility (SIM), Sitrat/ Simon Citrat Agar (SCA). Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut *n*-heksan, etil asetat, metanol, aquadest steril, amil alkohol, HCl 2N, H₂SO₄ pekat, HCl pekat, CH₃COOH, FeCl₃ 1%, serbuk Mg, kloroform, serbuk silika gel.

3. Jalannya Penelitian

Pertama, dilakukan determinasi tanaman dengan menetapkan kebenaran sampel tanaman jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mencocokkan morfologis yang ada dalam tanaman dengan kunci determinasi pada buku FLORA untuk Sekolah di Indonesia oleh Dr. C.G.G.J Van Steenis.

Kedua, daun jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) yang sudah dipetik dicuci bersih, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40° C selama ± 2 hari dengan parameter kadar air kurang dari 10%. Pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi

kadar air, sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Selain itu untuk mengurangi bekerjanya enzim dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu serta memudahkan dalam proses penyerbukan (Harborne, 1987). Daun jengkol yang telah kering diserbuk dengan alat penyerbuk, serta diayak dengan menggunakan ayakan no.60 kemudian dilakukan persentase bobot kering terhadap bobot basah (Voigt, 1995).

Ketiga, pembuatan ekstrak daun jengkol menggunakan metode soxhlet. Serbuk daun jengkol sebanyak 50gram dimasukkan pada kertas saring dan diikat dengan tali, dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang diisi dengan n-heksan sebanyak satu setengah kali sirkulasi lalu dihubungkan dengan pendingin balik serta pipa air. Larutan penyari yang terkumpul dalam soxhletasi dan telah mencapai tinggi maksimum, otomatis akan ditarik ke dalam labu alas bulat. Ekstraksi dilakukan sampai cairan penyari menjadi jernih, dari hasil ekstraksi tersebut didapat ampas dan filtrat. Ampas yang didapat disoxhlet lagi dengan menggunakan pelarut etil asetat dan metanol dengan cara yang sama. Setelah didapat ketiga filtratnya dipekatkan dalam evaporator suhu 40 °C (Voigt, 1995).

Keempat, pemisahan ekstrak etil asetat dari daun jengkol dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom vakum. Silika gel GF-60 sebanyak 50gram dimasukkan ke dalam vakum, diatur sedemikian sehingga kerapatan silika gel GF-60 merata dengan cara divakum sesekali, ditekan namun tidak terlalu padat dan longgar agar kerapatan silika gel GF-60 merata. Ekstrak etil asetat dikeringkan dengan menggunakan silika gel GF-60 sedikit demi sedikit. Ekstrak yang sudah dicampur dengan silika gel GF-60, dimasukkan ke atas silika gel dan diratakan, kemudian atasnya diberi kapas. Fase gerak seperti dibuat bervariasi sesuai tingkat kepolaran, dimasukkan dan dielusikan secara gradien dengan sistem polaritas yang semakin meningkat. Vakum dihentikan sampai tidak ada tetesan eluen lagi, eluat ditampung didalam botol dan ditandai sebagai fraksi. Masing-masing fraksi dilakukan monitoring dengan KLT, fraksi yang mempunyai kromatogram yang sama dikumpulkan menjadi satu. Fraksi yang sudah diperoleh kemudian diuji aktivitas terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode difusi.

Kelima, pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi, hal ini bertujuan untuk menentukan luas daerah hambat dengan cara menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi yang telah dibuat dan ditekan-tekan pada ujung tabung, dioleskan pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) sampai rata (Bonang dan Koeswardono 1982). Pada media tersebut dibuat sumuran dengan menggunakan boor prop. Satu sumur untuk blanko dan sumuran yang lain diisi ekstrak yang diuji dengan konsentrasi 25 %, 50 %, 75 % dan 100 %. Jumlah bakteri yang digunakan disesuaikan dengan kekeruhan Standart Brown II yang dianggap setara dengan 678 juta bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (Bonang dan Koeswardono 1982). Masa inkubasi 24-48 jam pada suhu 37°C, ada tidaknya daya hambat yang teramati dalam ukuran ml dibandingkan dengan blanko yang digunakan. Daerah yang ditumbuhi bakteri di sekitar sumuran yang berisi larutan

uji menandakan bahwa kandungan kimia daun jengkol memiliki daya hambat terhadap bakteri uji.

4. Hasil dan Pembahasan

1. Hasil Determinasi

Hasil determinasi yang diperoleh setelah dibandingkan dengan pustaka FLORA untuk Sekolah di Indonesia oleh Dr. C.G.G.J Van Steenis, maka dapat dipastikan bahwa tanaman tersebut merupakan tanaman jengkol. Hasil determinasi tanaman jengkol dengan kunci detrmniasi adalah sebagai berikut:

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9a - 41b - 42b - 43b - 54a - 55a - 56b → Fam. **Mimosaceae** → 1b - 6b - 7a → **Pithecollobium** → *Pithecollobium labatum* **Benth.**

2. Pembuatan ekstrak daun jengkol

Daun jengkol yang sudah dipetik dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri yang menyebabkan pembusukan serta mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk. Kemudian dilakukan penetapan kadar air serbuk daun jengkol menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Persentase rata-rata kadar air serbuk daun jengkol yaitu 8,82%. Kadar air standar serbuk yaitu antara 5% - 10% dan tidak boleh melebihi, karena jika kadar air tinggi dapat menyebabkan perubahan kerja enzim dan perubahan kimia zat aktif, sehingga menurunkan mutu serbuk dan akan mudah ditumbuhi oleh jamur.

Pembuatan ekstrak daun jengkol dibuat menggunakan alat soxhlet dengan metode ekstraksi bertingkat. Pertama kali dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun jengkol sebanyak 50 gram dibungkus dalam kertas saring atau selongsong, kemudian dimasukkan dalam alat soxhlet dengan pelarut n-heksan sebanyak satu setengah sirkulasi, dan dipanaskan dengan api secara tidak langsung yaitu dengan menggunakan panci yang diisi air panas. Ekstraksi dilakukan sampai cairan penyari menjadi jernih, kurang lebih sampai 200 sirkulasi. Hasil ekstraksi diperoleh ampas dan filtrat, ampas yang didapat dikeringanginkan kemudian diekstraksi lagi seperti cara di atas dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak satu setengah sirkulasi, diekstraksi sampai cairan penyari berwarna jernih, sirkulasi yang diperoleh adalah 60 kali. Ampas sisa hasil ekstraksi etil asetat kemudian dikering anginkan dan diekstraksi lagi dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak satu setengah sirkulasi. Ekstraksi dihentikan sampai cairan penyari jernih, sebanyak 80 kali sirkulasi. Kemudian ketiga filtrat hasil ekstraksi tadi dipekatkan dalam oven suhu 40°C. Data hasil pembuatan ekstrak daun jengkol dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil ekstrak daun jengkol menggunakan pelarut n-heksan

No	Bobot sampel (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
1	50	2,066	4,13
2	50	2,175	4,35
3	50	2,159	4,32
	Rata-rata	2,133	4,27

Tabel 2. Hasil ekstrak daun jengkol menggunakan pelarut etil asetat

No	Bobot sampel (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
1	50	7,044	14,09
2	50	8,194	16,39
3	50	8,045	16,09
	Rata-rata	7,761	15,52

Tabel 3. Hasil ekstrak daun jengkol menggunakan pelarut metanol

No	Bobot sampel (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
1	50	11,196	22,39
2	50	10,126	20,25
3	50	11,058	22,12
	Rata-rata	10,800	21,59

Hasil rendemen ekstrak soxhlet dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan metanol daun jengkol yang diperoleh adalah 4,27 % (b/v), 15,52 % (b/v), dan 21,59 % (b/v). Dari ketiga ekstrak hasil soxhlet di atas rendemen terbanyak diperoleh saat menggunakan metanol sebagai larutan penyari. Ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan metanol daun jengkol diuji daya antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Ekstrak teraktif kemudian dilakukan pemisahan fraksi-fraksi menggunakan kromatografi kolom vakum.

3. Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan metode difusi (sumuran)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran/difusi dengan replikasi 3 kali terhadap ketiga ekstrak yaitu: ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan metanol. Metode sumuran berfungsi untuk mengetahui diameter hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hasil diameter hambat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Perbandingan diameter hambat ketiga pelarut terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi.

Fraksi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
n-heksan	0	0	0	0
Etil asetat	12 mm	11 mm	12 mm	11,67
metanol	7 mm	6 mm	6 mm	6,33

Ketiga ekstrak yang diuji dengan konsentrasi 5000 ppm, mempunyai diameter hambat yang berbeda-beda. Ekstrak n-heksan tidak dapat membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, ekstrak etil asetat mempunyai diameter hambat rata-rata 11,67 mm dan ekstrak metanol mempunyai diameter hambat rata-rata 6,33 mm. Ekstrak yang teraktif adalah ekstrak etil asetat dengan diameter hambat rata-rata terbesar jika dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak metanol.

4. Hasil uji aktivitas fraksi -fraksi dari ekstrak etil asetat

Masing-masing fraksi yang telah dikelompokkan tadi diambil 5 mg untuk mengetahui diameter hambat dengan konsentrasi yang sama yaitu 5000 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hasil luas daerah hambat dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Diameter hambat kelompok fraksi

No.	Fraksi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
1	I	0	0	0	0
2	II	0	0	0	0
3	III	5 mm	6 mm	5 mm	5,33 mm
4	IV	13 mm	14 mm	14 mm	13,67 mm
5	V	11 mm	11 mm	12 mm	11,33 mm

Ket: 0 = tidak memberikan hambatan

Hasil kelima fraksi di atas, fraksi III sampai V menunjukkan adanya diameter hambat, kecuali fraksi I dan II tidak menunjukkan adanya diameter hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Fraksi III mempunyai diameter hambat rata-rata 5,33 mm, fraksi IV diameter hambat rata-rata adalah 13,67 mm dan fraksi V diameter hambat rata-rata adalah 11,33 mm. Fraksi IV menunjukkan diameter hambat paling besar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, kemudian dilakukan variasi konsentrasi.

5. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- a. Ekstrak etil asetat paling aktif menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan metanol.
- b. Fraksi III sampai V dari ekstrak etil asetat daun jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, sedangkan fraksi I dan II tidak mempunyai aktivitas antibakteri.
- c. Diameter hambat rata-rata yang diperoleh dari fraksi IV dari ekstrak etil asetat daun jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah 11,33 mm (3000 ppm); 13,33 mm (5000 ppm); 15,33 mm (7000 ppm).

2. Saran

Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun jengkol (*Pithecollobium labatum* Benth) dengan dibuat bentuk sediaan dan dilakukan uji praklinis.

Daftar Pustaka

- Anita, 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat dan Etanol 70% Daun Jengkol (Pithecollobium labatum B.) terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923 secara Dilusi*. Skripsi. Fakultas Farmasi USB. Surakarta.
- Bonang, G., dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium Dan Klinik*. Jakarta: Penerbit PT. Gramedia. hlm 77 -78, 176-191.
- Ganiswarna, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. hlm 571-575.
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya hlm 106.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi II. Bandung. Institut Teknologi Bandung. hlm 155-157.
- Harminta. 2004. *Analisa Hayati*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia Press.
- Hostettmann, K., Marston, A., & Hostettmann, M. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hutapea, J.R. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Volume III*, Jakarta: DepKes RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. hlm 219.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Diterjemahkan oleh Bonang G., Edisi XVI, ECG. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. hlm 58-63, 291-293, 303-306.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 2005. *Medical Microbiology*, 23 th Ed. Elferia NR, penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. hlm 229.
- Pelczar, M.J. and Chan, E.G.S., 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan Hadioentomo, R.S., Imas Tejo, Tjitrosomo. S., Angka. S.L. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. 107-173

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi VI. Bandung: Penerbit ITB, Bandung. hlm 71, 161, 191.
- Santoso dan Gunawan. 2004. *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Kulit*, Jakarta: Penebar Swadaya, hlm 43-44.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Fakultas Farmasi, Yogyakarta: Universitas Gajah Mada, hlm 167-177.
- Suryono, B. 1995. *Bakteriologi Umum dan bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi analisis Kesehatan Bhakti Jaya.
- Syarif, A., Setiawan, A., dan Muchtar, A. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Bagian Farmakologi. 514-526. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi IV. Diterjemahkan oleh Soendani Noerono. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 566-567, 570-573.