

**Uji Aktivitas Antibakteri dan Kandungan Senyawa Aktif Ekstrak n-Heksan,
Etil Asetat dan Etanol 70% biji Melinjo (*Gnetum gnemon*. L)
terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans***

Anita Kumala Hati⁽¹⁾, Multazamudin⁽²⁾, Muhammad Iqbal⁽³⁾

⁽¹⁾Program Studi S-1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

⁽²⁾Program Studi S-1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

⁽³⁾Program Studi S-1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

e-mail: anitakumalahati@gmail.com

ABSTRAK

Submit :
15 Februari 2018

Revisi :
20 Februari 2018

Accepted :
25 Februari 2018

Indonesia kaya dengan ragam flora, banyak tanaman yang mempunyai aktivitas farmakologis, salah satunya adalah biji melinjo (*Gnetum gnemon*. L). Berdasarkan hasil penelitian ilmiah, menunjukkan bahwa biji melinjo memiliki potensi antibakteri karena mengandung senyawa alkaloid, polifenol, steroid, dan saponin. *Salmonella thypi* bakteri gram negatif penyebab infeksi tifoid. *Streptococcus mutans* bakteri gram positif penyebab karies gigi. Pelarut yang berbeda kepolaran akan menarik senyawa yang berbeda kepolaran juga. Hasil uji antibakteri ekstrak n-Heksan dan etil asetat biji melinjo terhadap bakteri *Salmonella thypi* tergolong lemah, terhadap *Streptococcus mutans* tergolong sedang, dan dari ekstrak etanol 70% biji melinjo terhadap kedua jenis bakteri tersebut memberikan respon penghambatan kuat. Kandungan senyawa aktif dalam ekstrak n-Heksan dan etil asetat adalah Alkaloid dan Saponin. Kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol 70% adalah Polifenol dan Saponin.

Kata Kunci: Antibakteri, Biji Melinjo, Maserasi bertingkat

Indonesia is rich in flora, many plants have pharmacological activity, one of them is melinjo seed (*Gnetum gnemon* L). Based on the results of scientific research, showed that the seeds melinjo have antibacterial potential because it contains compounds alkaloids, polyphenols, steroids, and saponins. *Salmonella thypi* gram-negative bacteria cause typhoid infections. *Streptococcus mutans* gram-positive bacteria cause dental caries. Different solvents of polarity will attract different compounds of polarity as well. The results of antibacterial test of n-hexane extract and ethyl acetate of melinjo seeds on *Salmonella thypi* bacteria were classified as weak, against *Streptococcus mutans* classified as middle, and from ethanol extract 70% melinjo seeds to both types of bacteria gave a strong inhibitory response. The content of active compounds in n-hexane and ethyl acetate extracts are Alkaloids and Saponins. The content of active compounds in 70% ethanol extract are Polyphenols and Saponins.

Keywords: Antibacterial, Melinjo Seeds, Standing Maseration

PENDAHULUAN

Salmonella typhi adalah bakteri penyebab demam tifoid. Penyakit ini menyerang hampir disemua negara, terutama di negara-negara berkembang seperti Indonesia. Di Indonesia angka kejadian demam tifoid sebesar 1,5% yang artinya terdapat kasus demam tifoid 1.500/100.000 penduduk Indonesia (Herawati and Ghani, 2009).

Streptococcus mutans merupakan agen penting penyebab karies gigi. *S. mutans* merupakan mikroflora normal rongga mulut yang memiliki daya virulensi yang kuat dan kemampuannya membentuk biofilm. Mikroorganisme ini dijumpai pada 33-75% pada anak usia 4 tahun, 80-90% pada remaja dan hampir pada semua orang dewasa (Boel T. 2000. dan Yoshida A. 2003.). *S. mutans* memiliki berbagai polimer permukaan sel sebagai bahan antigen sehingga mampu melekat dan berkolonisasi pada jaringan mulut. Bakteri ini ditemukan pada plak gigi dan saliva dengan persentase tertinggi terdapat pada plak (Yoshida A. 2003 dan Widjiastuti I. 2009).

Populasi mikroba dalam plak gigi erat kaitannya dengan perkembangan karies. *S. mutans* dianggap sebagai patogen dominan sehingga konsentrasinya yang tinggi menyebabkan seseorang berisiko terhadap karies. Identifikasi keberadaan serta konsentrasi *S. mutans* dalam plak dan saliva merupakan salah satu cara memprediksi risiko seseorang terhadap kejadian karies (Hata S. 2005). Penghambatan pertumbuhan *S. mutans* dalam plak dan saliva merupakan salah satu cara pencegahan terhadap kejadian karies.

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan salah satu komoditas lokal yang mempunyai beberapa manfaat. Melinjo banyak dibudidayakan di Indonesia, tetapi

pemanfaatannya sangat kurang, hanya terbatas sebagai sayur dan bahan baku pembuatan emping. Menurut Siswoyo (2004), biji melinjo mengandung 9-11% protein, 16,4% lemak, 58% pati, dan komponen minor seperti fenolik/flavonoid. Selain itu, Siswoyo (2007) juga menemukan fungsi lain melinjo sebagai antimikroba alami. Peptida Gg-AMP yang diisolasi dari biji melinjo mempunyai aktivitas antibakteri terhadap jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Komponen polifenol yang sekarang ini sedang dikembangkan ialah kandungan resveratrol dari melinjo. Sedangkan Hisada et al. (2005) yang meneliti tiga jenis stilbenoid yang diisolasi dari 50% ekstrak etanol dan metanol, menemukan bahwa melinjo kaya akan komponen polifenol yang disebut resveratrol. Resveratrol melinjo memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan, berperan baik sebagai pengawet makanan, menghambat *off flavor* dan meningkatkan citarasa. Salah satu faktor yang mempengaruhi total senyawa fenol, aktivitas antioksidan, dan antimikroba adalah proses ekstraksi. Proses ekstraksi juga dipengaruhi oleh jenis pelarut, suhu ekstraksi, dan waktu ekstraksi.

N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa bersifat nonpolar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010). Etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semi polar pada dinding sel (Harborne, 1987). Etanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat polar seperti golongan fenol.

Ekstraksi dapat dilakukan dengan tidak bertingkat yaitu hanya digunakan satu pelarut untuk ekstraksi, sedangkan pada

ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut. Ekstraksi bertingkat akan menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan, sedangkan ekstraksi tidak bertingkat menghasilkan senyawa yang terekstrak merupakan ekstrak total yang mampu terekstraksi dengan pelarut tersebut. Aisyah dan Asnani (2012) telah melakukan penelitian tentang pengaruh berbagai pelarut dan metode ekstraksi rumput laut, hasil menunjukkan bahwa kadar polifenol yang didapatkan lebih tinggi pada ekstraksi bertingkat dibandingkan ekstraksi tidak bertingkat.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas antibakteri dan profil kandungan senyawa aktif ekstrak N-heksana, etilasetat, dan etanol 70% biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) konsentrasi 15% terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans*.

METODE

Desain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan *posttest design experimental*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Ngudi Waluyo.

Waktu dan tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan Desember 2017. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang. Penelitian ini Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.

Tehnik Pengumpulan Data

Data yang diperoleh untuk penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini berasal

dari pustaka, pengambilan bahan, dan hasil penelitian secara langsung.

Instrumen Penelitian

Alat : Chamber Maserasi, Blender, Cawan Petri, Autoclaf, pengayak no mesh 30, waterbath, cawan porselen, inkubator, perforator, labu takar, pipet volume..

Bahan : Biji Melinjo, suspensi bakteri *Salmonella thypi*, suspensi bakteri *Streptococcus mutans*, n-Heksan, Etilasetat, Etanol 70%, Cotimoxazole, Hexadol®, H₂SO₄.

Sterilisasi Alat

Alat-alat kaca seperti beker gelas, gelas ukur, erlenmeyer, dan tabung reaksi, cawan petri, batang pengaduk dibungkus dengan kertas HVS. Kemudian alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 180⁰C selama 1 jam. Ose disterilisasi dengan cara dibakar di atas lampu bunsen sampai pijar.

Proses Pengolahan Simplisia

Biji melinjo (*Gnetum gnemon L*) yang masih segar dicuci dengan air yang mengalir dan dilakukan sortasi basah, kemudian dilakukan perajangan pada bijimelinjo (*Gnetum gnemon L*) dan dikeringkan di bawah sinar matahari tidak langsung dengan ditutupi dengan kain hitam. Hal ini bertujuan untuk menghindari kerusakan senyawa kimia yang terkandung dalam bijimelinjo (*Gnetum gnemon L*) Setelah kering, dilakukan sortasi kering untuk menyingkirkan bahan-bahan yang terlalu gosong. Biji melinjo (*Gnetum gnemon L*) yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus kemudian diayak dengan ayakan No.30 mesh, dan disimpan dalam wadah bersih tertutup rapat.

Proses Ekstraksi Biji Melinjo

Ekstraksi Sampel (Purwantoro, 2012), penelitian ini menggunakan metode

ekstraksi maserasi bertingkat sesuai tingkat polaritas pelarut. Ditimbang sebanyak 600 gram serbuk biji melinjo masukkan dalam bejana maserasi. Kemudian ditambahkan 6000 ml. n-heksan, direndam selama 3 hari dan sesekali diaduk. kemudian disaring dan dipisahkan, ekstrak n-heksan biji melinjo dipekatkan sehingga menjadi ekstrak kental n-heksan biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*). Ampas biji melinjo ditambahkan 6000 ml etil asetat, direndam dalam bejana maserasi selama 3 hari dan sesekali diaduk. Kemudian disaring dan dipisahkan, ekstrak etil asetat biji melinjo dipekatkan sehingga menjadi ekstrak kental etil asetat biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*). Masukkan ampas biji melinjo dalam bejana maserasi dan ditambahkan 6000 ml etanol 70%, kemudian direndam dalam bejana maserasi selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Saring dan pisahkan dengan ampasnya, diperoleh ekstrak etanol 70% biji melinjo, kemudian dipekatkan sehingga menjadi ekstrak kental Etanol 70% biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*).

Uji Kandungan senyawa kimia

Masing-masing ekstrak kental yang diperoleh diuji kandungan senyawa Alkaloid, Saponin dan Polifenol melalui reaksi kualitatif senyawa kimia dengan tabung reaksi.

Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak kental n-heksan, etil asetat, dan etanol 70 % Biji Melinjo dibuat dalam konsentrasi 15 % b/v.

Perlakuan

Penentuan aktifitas antibakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans* dilakukan dengan menggunakan metode difusi dengan cara sumuran. Prosedurnya yaitu:

- Oleskan bakteri uji diatas media MHA yang telah memadat dalam cawan petri.
- Dibuat sumuran pada media agar yang telah dipadatkan dengan menggunakan alat lubang tips atau pencadang
- Diberi label pada masing-masing lubang sumuran dengan masing-masing ekstrak serta control negative dan positif.
- Setelah diberi label dimasukkan ekstrak kedalam lubang sumuran pada masing-masing konsentrasi, perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali
- Cawan agar diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37⁰C
- Setelah diinkubasi, zona hambatan yang terbentuk diamati dan diukur.

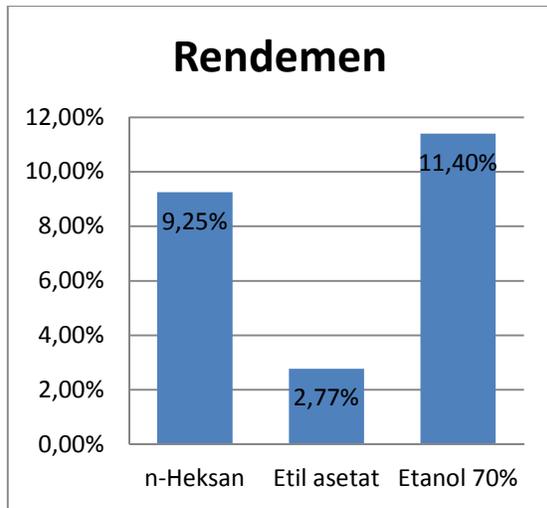
HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) yang digunakan dalam proses penelitian ini telah dideterminasi di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis *Gnetum gnemon L.*, suku Gnetum.

Hasil Ekstraksi

Hasil ekstraksi biji melinjo dengan metode maserasi bertingkat secara berturut-turut menghasilkan ekstrak kental n-heksan biji melinjo sebanyak 55,55 gram dengan rendemen sebesar 9,25%. Ekstrak kental Etil asetat biji melinjo sebanyak 16,64 gram dengan rendemen sebesar 2,77%, dan untuk ekstrak kental etanol 70% biji melinjo didapatkan hasil sebanyak 68,39 gram dengan rendemen sebanyak 11,40%.



Dari hasil diatas dapat disimpulkan rendemen teringgi ada pada ekstrak etanol

Hasil uji kandungan senyawa aktif

Tabel 1. Identifikasi Kualitatif kandungan senyawa kimia ekstrak n-heksan, etilasetat, dan etanol 70 % biji melinjo (*Gnetum gnemon.L*)

Senyawa	Prosedur Uji	Hasil Positif	Ekstrak n-Heksan	Ekstrak Etilasetat	Ekstrak Etanol 70%
Polifenol	Ekstrak + 10 ml air panas + FeCl ₃ 1%.	Terbentuknya warna merah, hijau kehitaman (Harborne, 1987)	-	-	+
Saponin	Ekstrak + 1 ml aquades panaskan 2-3 menit dinginkan lalu dikocok	Terbentuk busa yang stabil (Depkes RI, 1979)	+	+	+
Alkaloid	Ekstrak + 1 ml + pereaksi mayer	Timbul endapan berwarna putih (Harborne, 1987)	+	+	-

Keterangan :

- + = Positif mengandung senyawa
- = Tidak mengandung senyawa

Hasil identifikasi kandungan kualitatif senyawa aktif dalam ekstrak n-heksan, etilasetat dan etanol 70% biji melinjo (*Gnetum gnemon.L*) menunjukkan bahwa dalam semua ekstrak tersebut terkandung Saponin. Hal ini diakibatkan oleh sifat Saponin yang memiliki gugus

70%, kemudian diikuti n-heksan, dan yang paling kecil rendemennya adalah ekstrak etil asetat.

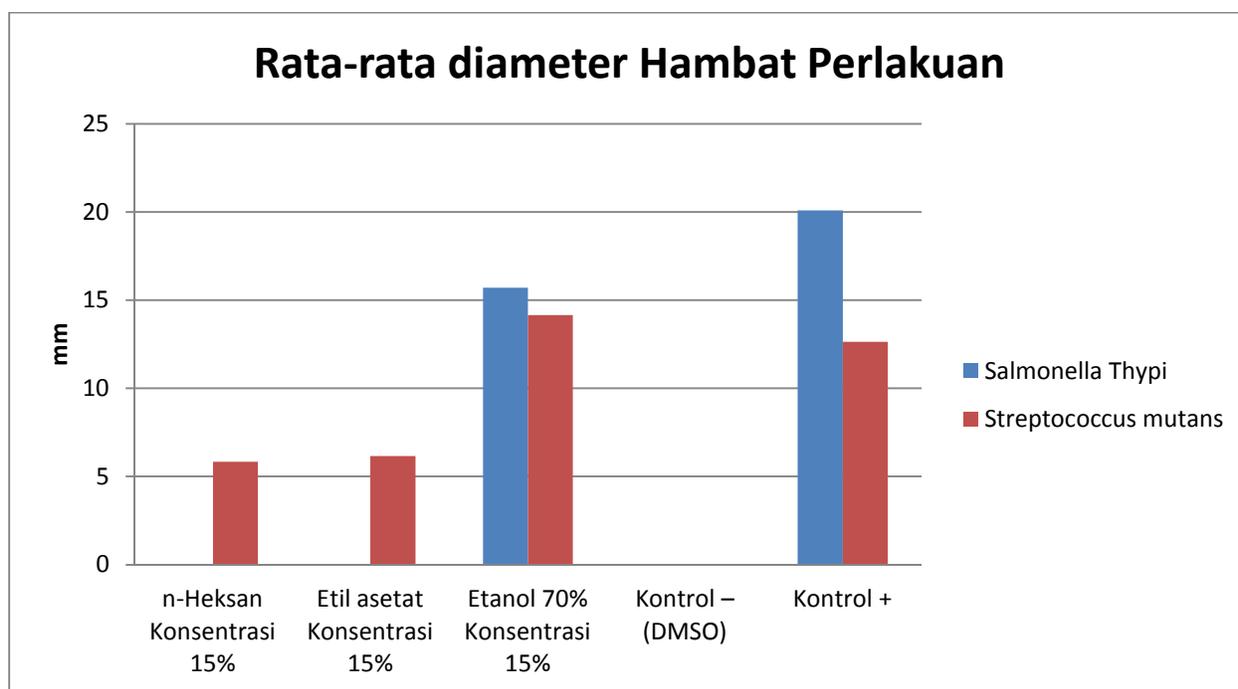
Hasil perolehan rendemen ekstraksi bertingkat biji melinjo dapat sejalan dengan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak. Biji banyak mengandung lemak yang akan lebih larut dalam pelarut non-polar. Sedangkan Fenol yang terkandung dalam biji akan lebih banyak larut dalam pelarut polar dalam penelitian ini etanol 70%.

polar dan gugus nonpolar sehingga dapat terlarut dalam pelarut nonpolar hingga pelarut polar. Ekstrak n-heksan mengandung Alkaloid dan saponin. Ekstrak Etilasetat mengandung Alkaloid, dan Saponin. Sedangkan ekstrak Etanol 70% mengandung Polifenol dan Saponin.

Hasil uji daya hambat

Tabel 2. Rata-rata Diameter Hambat ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% biji melinjo (*Gnetum gnemon*.L) terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans*

Perlakuan terhadap <i>Salmonella thypi</i>	Rata-rata Diameter Hambat (mm) ± SD	Perlakuan terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	Rata-rata Diameter Hambat (mm) ±SD
n-Heksan Konsentrasi 15%	0 ± 0,00	n-Heksan Konsentrasi 15%	5,83 ± 0,07
Etil asetat Konsentrasi 15%	0 ± 0,00	Etil asetat Konsentrasi 15%	6,17 ± 0,12
Etanol 70% Konsentrasi 15%	15,71 ±0,07	Etanol 70% Konsentrasi 15%	14,15 ± 0,06
Kontrol – (DMSO)	0 ± 0,00	Kontrol – (DMSO)	0 ± 0,00
Cotrimoxazole 0,5%	20,08 ±0,06	Hexadol®	12,63 ± 0,09



Tabel 3. Klasifikasi Diameter Zona Bening dan Respon Hambat Pertumbuhan Bakteri (Davis dan Stout (1971))

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 20 mm	Sangat kuat
11 - 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
4 mm	Lemah

Berdasarkan hasil penelitian diatas, didapatkan bahwa ekstrak Etanol 70% biji melinjo konsentrasi 15% memiliki respon hambat pertumbuhan yang kuat terhadap

bakteri *Salmonella thypi* maupun *Streptococcus mutans*. Sedangkan ekstrak n-Heksan dan etil asetat biji melinjo konsentrasi 15% hanya merespon Lemah

terhadap *Salmonella thypi* dan merespon sedang terhadap *Streptococcus mutans*.

Jika dihubungkan dengan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak, maka senyawa utama yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah polifenol. Sebab hanya dalam ekstrak Etanol 70% mengandung Polifenol yang tersari dari biji melinjo dan ekstrak Etanol 70% biji melinjo memiliki

respon penghambatan Kuat terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans*. Komponen polifenol yang sekarang ini sedang dikembangkan ialah kandungan resveratrol dari melinjo. Resveratrol melinjo memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan, berperan baik sebagai pengawet makanan, menghambat *off flavor* dan meningkatkan citarasa (Hisada, 2005).

Hasil uji Mann whitney diameter hambat Ekstrak n-Heksan, etil asetat, dan etanol 70% biji melinjo (*Gnetum gnemon*.L)

Tabel 4. Hasil uji Mann whitney

Kelompok Perlakuan	<i>Salmonella thypi</i>		<i>Streptococcus mutans</i>	
	Sig	Keterangan	Sig	Keterangan
Kontrol (-) dan Kontrol (+)	0.037	Berbeda signifikan	0.034	Berbeda signifikan
Kontrol (-) dan Ekstrak n-heksan	1.000	Berbeda tidak signifikan	0.337	Berbeda tidak signifikan
Kontrol (-) dan Ekstrak etil asetat	1.000	Berbeda tidak signifikan	0.237	Berbeda tidak signifikan
Kontrol (-) dan Ekstrak etanol	0.034	Berbeda signifikan	0.037	Berbeda signifikan
Kontrol (+) dan Ekstrak n-heksan	0.037	Berbeda signifikan	0.046	Berbeda signifikan
Kontrol (+) dan Ekstrak etil asetat	0.037	Berbeda signifikan	0.069	Berbeda signifikan
Kontrol (+) dan Ekstrak etanol	0.435	Berbeda tidak signifikan	0.446	Berbeda tidak signifikan
Ekstrak n-heksan dan Ekstrak etil asetat	1.000	Berbeda tidak signifikan	0.822	Berbeda tidak signifikan
Ekstrak n-heksan dan Ekstrak Etanol	0.034	Berbeda signifikan	0.046	Berbeda signifikan
Ekstrak Etil asetat dan Ekstrak Etanol	0.034	Berbeda signifikan	0.034	Berbeda signifikan

Hasil uji mann whitney menunjukkan Ekstak n-heksan dan etil asetat biji melinjo (*Gnetum gnemon*. L) konsentrasi 15% menghasilkan daya hambat terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans* yang tidak berbeda signifikan terhadap kontrol negatif dan berbeda signifikan dengan kontrol positif. Sedangkan Ekstak etanol 70 % biji melinjo (*Gnetum gnemon*. L) konsentrasi 15%

menghasilkan daya hambat terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *Streptococcus mutans* yang berbeda signifikan terhadap kontrol negatif dan berbeda tidak signifikan dengan kontrol positif.

SIMPULAN

1. Ekstrak n-Heksan dan Etil asetat biji melinjo 15% b/v menghasilkan respon

hambat pertumbuhan kategori lemah terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan kategori sedang terhadap *Streptococcus mutans*.

- Ekstrak Etanol 70% biji melinjo 15% b/v menghasilkan respon hambat pertumbuhan kategori kuat terhadap bakteri *Salmonella thypi* maupun *Streptococcus mutans*.
- Kandungan senyawa aktif dalam Ekstrak Etanol 70% adalah Polifenol dan Saponin.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar Total Fenol dalam ekstrak etil asetat dan etanol 70% biji melinjo.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah T.S., dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sagarsum duplicatum*) Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut. 6(1): 22.
- Boel T. 2000. Daya antibakteri kombinasi triklosan dan zink sitrat dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Dentika Dent J* 2000;5(1):7-10
- Davis & Stout. (1971). Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of. Microbiology*. Vol 22 No 4.
- Hata S. 2005. Quantitative detection of *S. mutans* in the dental plaque of Japanese preschool children by real-time PCR. *Letters in Appl Microbiol* 2005;42:127-131
- Hisada, Hiromi, A. Masahiro, K. Eishin, and S. Fujio. 2005. Antibacterial and Antioxidative Constituents of Melinjo Seeds and Their Application to Foods. <http://sciencelinks.jp/jeast/article/>. Diakses pada tanggal 20 Juni 2017 pukul 09.45 WIB.
- Herawati M.H., Ghani L., 2009. Hubungan Faktor Determinan dengan Kejadian Tifoid Di Indonesia Tahun 2007 (Association of Determinant Factors with Prevalence of Typhoid in Indonesia). 19 (4), 165–173.
- Maulida D. dan Naufal Z. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solvent Campuran, N-heksana, Aseton dan Etanol. Skripsi S1 (Tidak dipublikasikan). Universitas Diponegoro.
- Purwantoro RS. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Schefflera elliptica* Blufame and Forums 159(3):406-410, <http://perpustakaanancyber.blogspot.com/2013/06/html> (Diakses 11 November 2017).
- Widjiastuti I. 2009. Peran agglutinin saliva sebagai mediator perlekatan bakteri *S. mutans* pada penderita bebas karies dan karies gigi. Available from http://digilib.unair.ac.id/go.php?id=ip_unair-gdl-res. Accessed Januari17, 2018
- Yoshida A. 2003. Development of a 5' nuclease-based real time PCR assay for quantitative Detection of cariogenic dental pathogens

Streptococcus mutans and Microbiol 2003: 4438-41.
Streptococcus sobrinus. JClin