

ISOLASI SENYAWA AKTIF DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*

A. *Juss*) TERHADAP *Streptococcus mutans*

Rahmayanti Fitriah
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari
Jl. Kelapa Sawit 8 Bumi Berkat Kel. Sungai Besar Banjarbaru
Email : rahmayanti.fitriah@yahoo.com

ABSTRAK

Berdasarkan hasil penelitian pengujian aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol daun mimba (*Azadirachta indica* a. *juss*) terhadap *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi masing-masing pelarut yaitu 100 mg/100 mL, 50 mg/100 mL dan 25 mg/100 mL menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 95% dari daun mimba memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Ekstrak n-heksana memberikan aktivitas antibakteri tertinggi pada konsentrasi 100 mg/ 100 mL dengan daya hambat 18,70 mm terhadap *Streptococcus mutans*. Untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksana maka dilakukan pengujian kromatografi lapis tipis. Dari uji KLT dihasilkan dua noda yaitu X1 (Rf : 0,7) dan X2 (Rf : 0,6). Hasil pemisahan KLT diuji aktivitas antibakteri dengan Metode Sumur (Hole Method). Isolat aktif (X2) yang ditunjukkan pada kromatogram dipisahkan dengan KLT Preparatif, lalu dilakukan uji kemurnian dengan KLT 2 arah dan diidentifikasi dengan spektrofotometer UV dan Infra Merah (IM). Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan adanya isolat aktif (X2) dengan Rf = 0,6 yang memberikan fluoresensi biru hijau dibawah sinar UV 366 nm dan menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa isolat X2 dalam metanol memberikan serapan pada panjang gelombang 272 nm dan 331 nm pada spektrum UV. Hasil spektrofotometri Infra Merah (IM) isolat X2 menunjukkan pita serapan pada bilangan gelombang 3350.1 cm⁻¹ yang menunjukkan gugus OH, bilangan gelombang 2974.0 cm⁻¹ 2891.1 cm⁻¹ menunjukkan Ar-H dan C=C-H, bilangan gelombang 1649.0 cm⁻¹ menunjukkan C=O, serta bilangan gelombang 1382.9 cm⁻¹; 1454.2 cm⁻¹ yang menunjukkan lentur C-H. Dari hasil identifikasi dan karakterisasi menunjukkan bahwa isolat X2 termasuk golongan senyawa flavonol.

Kata kunci : Daun mimba (*Azadirachta indica* A.*Juss*), aktivitas antibakteri, metode sumur, KLT Preparatif, Spektrum UV, Spektrum IM.

PENDAHULUAN

Daun Mimba berkhasiat sebagai antibakteri, antivirus, menanggulangi penyakit kulit, menjaga kesehatan mulut dan gigi, sebagai obat malaria

yang dapat disetarakan dengan kina, mengurangi rasa sakit, obat demam, dapat mengontrol kelahiran, obat cacing untuk ternak, bahkan mampu

menghambat pertumbuhan HIV (virus penyebab penyakit AIDS) (Kardinan, 2003). Bagian daun Mimba mengandung beberapa komponen dari metabolit sekunder yang diduga berperan sebagai antibakteri yaitu nimbin dan nimbidin (Ruskin, 1993).

Penelitian yang telah dilakukan mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi masing-masing pelarut yaitu 100 mg/100 mL, 50 mg/100 mL dan 25 mg/100 mL menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 95%

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer (Shimadzu UV 160 U), autoclave, oven (Memmert), incubator, cawan petri, pipa kapiler, plat silika GF254, bejana KLT, larutan ekstrak n-heksana, larutan pengembang n-heksana : etil asetat (9 : 1), penampak noda UV 366 nm, dan uap amonia.

Pemantauan Kandungan Ekstrak N-Heksana

Pemantauan kandungan ekstrak dengan kromatografi lapis tipis dilakukan terhadap larutan ekstrak yang memberikan aktivitas paling baik dengan plat silika GF254 menggunakan larutan pengembang n-heksana : etil asetat (9 : 1) dengan penampak noda UV 366 nm, dan uap amonia.

Isolasi Dan Karakterisasi

Larutan ekstrak n-heksana ditotolkan berupa garis pada salah satu bagian

dari daun mimba memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Ekstrak n-heksana memberikan aktivitas antibakteri tertinggi pada konsentrasi 100 mg/ 100 mL dengan daya hambat 18,70 mm terhadap *Streptococcus mutans* (Fitriah, Rahmayanti., 2017). Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka penelitian ini dilanjutkan untuk mengisolasi senyawa aktif daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat paling baik.

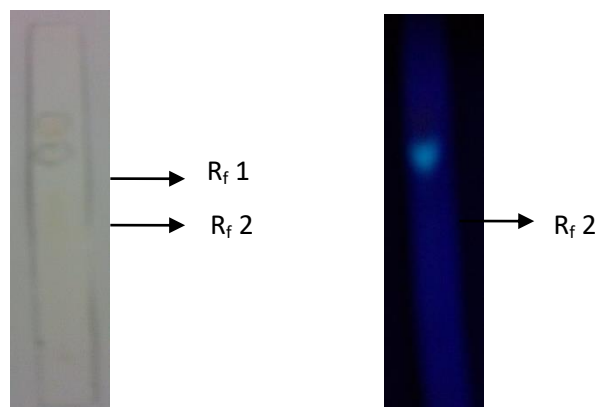
METODOLOGI PENELITIAN

sisi pelat (10 x 10 cm), kemudian dikembangkan menggunakan pengembang n-heksana : etil asetat (9:1) secara tegak lurus pada bejana KLT. Pita yang terbentuk ditampakkan menggunakan sinar UV 366 nm, kemudian pita yang memberikan aktivitas antibakteri dikerok dari lapisan penyerap. Setelah itu isolat dielus dengan pengembang n-heksana : etil asetat (9:1) kemudian filtrat dipisahkan lalu dihilangkan pelarutnya. Dilakukan pemantauan dengan KLT satu arah dan KLT dua arah dengan penampak bercak UV 366 nm didapatkan fluoresensi pada isolat X2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemantauan Kandungan Ekstrak

Kromatografi lapis tipis dilakukan terhadap ekstrak n-heksana dengan menggunakan pengembang n-heksana : etil asetat (9:1) dengan penampak noda UV 366 nm, dan uap amonia. Dihasilkan dua noda yaitu X1 (Rf: 0,7) dan X2 (Rf : 0,6) Hasil kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada gambar 1

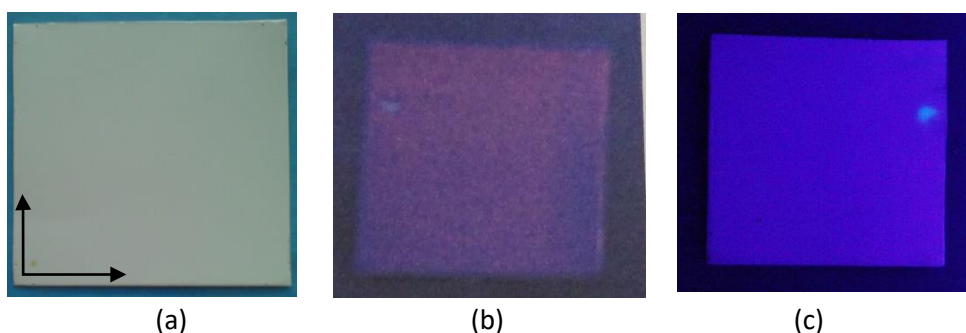


Gambar 1. Hasil Kromatogram Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak N-Heksana Daun Mimba
(A) Sinar Tampak (B) Penampak bercak UV 366 nm

Pemisahan dan Pemurnian Senyawa

Pemisahan isolat dilakukan terhadap ekstrak yang memberikan aktifitas paling baik menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif dengan pengembang n-heksana : etil asetat (9 : 1) memberikan hasil yang baik, didapatkan isolat X₂ yang memiliki aktivitas biologi. Isolat X₂ berupa massa berbentuk semi solid berwarna kuning muda. Pengujian kemurnian dilakukan dengan KLT dua arah menggunakan pengembang

I n-heksana : etil asetat (9 : 1) dan pengembang II toluen : aseton , (3 : 2). Dengan penampak bercak UV 366 nm pada pengembangan pertama dihasilkan bercak berfluoresensi biru hijau dengan $R_f = 0.76$ Setelah pengembangan ke 2 terdapat 1 bercak pada penampak bercak UV 366 nm Berfluoresensi biru hijau dengan $R_f = 0.82$, hal ini menunjukkan kemungkinan senyawa telah murni dan menandakan senyawa termasuk golongan senyawa flavonol.



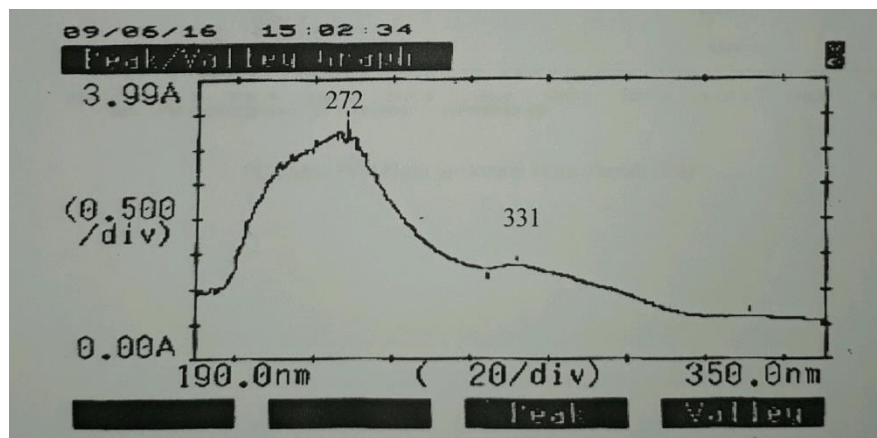
Gambar 2. KLT dua arah isolat X₂

- (a) Hasil kromatografi dua arah isolat X₂
- (b) Pengembang pertama n-heksan : etilasetat (9:1)
- (c) Pengembang kedua toluen : aseton (3:2)
- (b) dan (c) Penampak bercak sinar UV λ_{366}

Identifikasi dan Karakterisasi Isolat

Hasil identifikasi isolat X₂ yang dilarutkan dalam metanol

diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV. Gambar hasil identifikasi isolat X₂ dapat dilihat pada gambar 3.

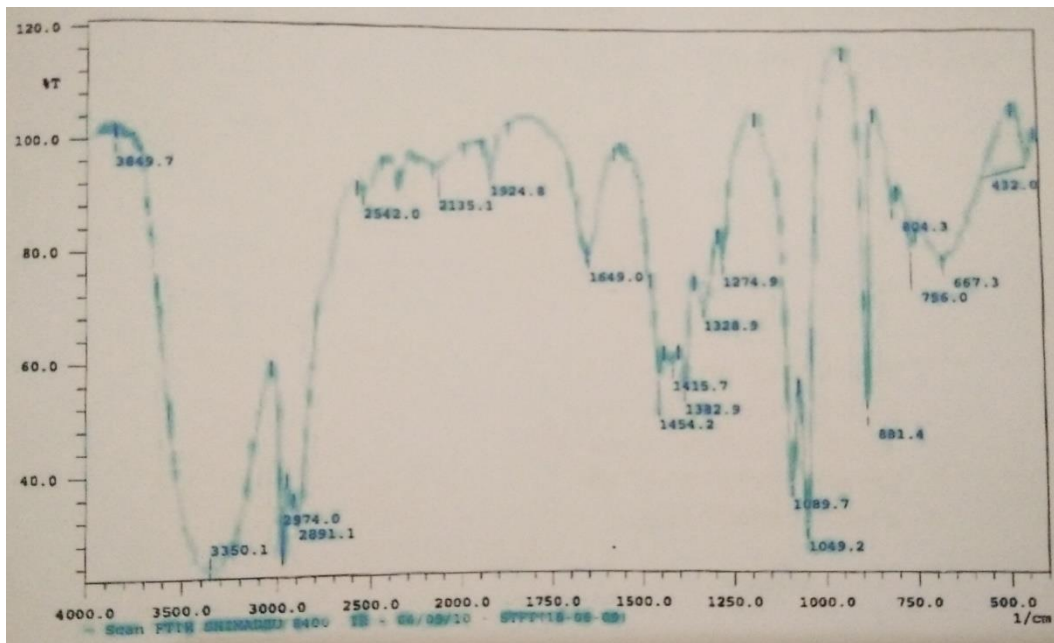


Gambar 3. Hasil Identifikasi Isolat X₂

Hasil dari spektrum UV menunjukkan bahwa isolat memberikan 2 buah puncak. Pita I pada 331 dan pita II 272 nm. Ini sesuai dengan ciri khas spektrum UV dari flavonoid yang mempunyai 2 buah puncak yaitu pita I pada range 300-380 nm dan pita II pada range 240-280 nm. Dari hasil spektrum UV dapat disimpulkan bahwa isolat X₂ adalah golongan senyawa flavonol.

Hasil spektrofotometri Infra Merah (1M) isolat X₂ menunjukkan

spektrum dengan puncak serapan pada bilangan gelombang 3350.1 cm⁻¹ yang menunjukkan gugus OH, bilangan gelombang 2974.0 cm⁻¹; 2891.] cm⁻¹ menunjukkan Ar-H dan C=C-H, bilangan gelombang 1649.0 cm⁻¹ menunjukkan C=O, serta bilangan gelombang 1382.9 cm⁻¹ ; 1454.2 yang menunjukkan lentur C-H. Gambar basil Spektrum Infra Merah (1M) dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil Spektrum Infra Merah (IM) Isolat X2

KESIMPULAN

Hasil isolasi dengan kromatografi lapis tipis preparatif kemudian dilakukan pemantauan KLT dua arah memberikan satu bercak pada isolat X2 dengan penampak bercak UV 366 memberikan hasil yang positif yaitu fluoresensi berwarna biru hijau, yang selanjutnya

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, G., 2007, Teknologi Bahan Alam - Seri Farmasi Industri, Penerbit ITB Bandung, hlm. 21.

Anitasari, S dan Nina, ER, 2005, "Hubungan frekuensi menyikat gigi dengan tingkat kebersihan gigi dan mulut siswa sekolah dasar negeri di Kecamatan Palamn Kotamadya Samarinda provinsi Kalimantan Timur",

diidentifikasi dengan spektrofotometri UV. Hasil pemantauan dengan KLT dan hasil identifikasi dengan spektrofotometri UV yang dilengkapi dengan spektrum IM diperkirakan isolat X2 yang memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* termasuk golongan senyawa flavonol.

Majalah Kedokteran gigi, 38 (2) : 88-90.

Cronquist, A., 1981, *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia University Press, New York. Departemen Kesehatan RI, 1989, *Materia Medika Indonesia*, jilid V, Jakarta, hlm. 536-540.

Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan, DepKes RI, 2000,

- Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Jakarta, hlm. 10-12.
- Farnsworth, NR, 1966, "Biological and Phytochemical Screening of Plants", Journal Of Pharmaceutical Sciences, Vol 55, No. 3, p. 225-275.
- Fitriah, Rahmayanti, 2017. " Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat Dan etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica A.Juss*) Terhadap *Streptococcus mutans*", Borneo Journal of Pharmascientech, Volume 01, Nomor 02. 2017.
- Ganiswama, G.S (ed), 1995, Farmakologi dan T erapi, edisi 4, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran UI, Jakarta , hlm. 571-573.
- Gritter R.J., Bobbitt, M.J., Schwarting, AR, 1991. Pengantar Kromatografi, Edisi II, terjemahan: K. Padmawinata, Bandung : ITB. hlm. 140-147.
- Harbome, J .B., 1984, Metode F itokimia, terjemah K. Padmawinata dkk, Penerbit ITB, Bandung, hlm. 13-15, 21-26.
- Hugo, and Russel, 2005, Pharmaceutical Mikrobiologi, Blackwell Scientific Publication, Australia, p. 197-199.
- Jawetz, E., Melnick, Adelberg's, 2004, Medical Microbiology, Intemasional edition. Mc Graw-Hill Companies, New York, p. 197-199.
- Kardinan, A, 2003, "Mimba (Azadirachta indica A. JUSS) T anaman Multi Manfiwt", Perkembangan Teknologi Tanaman Rempah dan Obat, XV, (1), Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor.
- Mc, Kane, L., 1986, Microorganism Essentials & Applications, Mc. Graw-Hill Int., Singapore, p. 73.
- Mulya, M. dan Suharman, 1995. Analisis Instrumental. Surabaya, Airlangga University Press, hlm. 26,80.
- Nugraha AW 2005 "Streptococcus mutans – Si plak Dimana-mana" fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Ruskin, FR, 1993," Neem a tree for solving global problems". National Academy Press, Washington, D.C.p.141.
- Rusmana, R. dan Oesman, Y.Y., 2002, Nimba, Tanaman Penghasi Pestisida Alami. Kanisius, Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, Hardjono., 1983, Kromatografi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, hlm. 29

- Soesilo, D., Rimla, ES., Indeswati, D., 2005, “*The role of Sorbitol in maintaining saliva’s pH to prevent caries process*”, Journal Faculty of Dentistry Airlangga University, 38, (1) : 25—28.
- Subramaniam, SK., Widowati, S., Siti, S., 2005, “*The effect of different concentrations of Neem (Azadirachta indica) leaves extract on the inhibition of Streptococcus mutans (in vitro)*” Journal Faculty of Dentistry Gadjah Mada University, 38, (4) : 176-179.
- Sukrasno, 2003, *Mimba Tanaman Obat Multifungsi*, Penerbit PT Agromedia Pustaka, Jakarta, hlm. 20.
- Tjay, TH. dan Kirana Rahardja, 2002, *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, edisi 5, Media K. Gramedia, Jakarta, hlm : 63, 66.
- Winarto, W. P., 2007, *Tanaman Obat Indonesia Untuk Pengobatan Herbal*, Jilid 2, Jakarta, hlm. 83.