

ANALISIS SENYAWA ALKALOID DAN FLAVONOID DARI EKSTRAK KITOLOD (*Isotoma longiflora*) DAN UJI AKTIVITASNYA TERHADAP BAKTERI PENYEBAB KARIES GIGI

(*Analysis of Alkaloid and Flavonoid Compounds from Kitolod Extract (Isotoma longiflora) and Activity Test to Dental Bacteria*)

Muhammad Fazil, Rempaka Nara Suci, Faizatul Allfiah, Desi Nur Alam, Gita Angelia, & Boima Situmeang

Program Studi Kimia, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, Banten
E-mail: boimatummeang@gmail.com/085262897312

ABSTRAK

Salah satu tumbuhan yang berpotensi dan belum banyak diteliti adalah tumbuhan kitolod. Tumbuhan kitolod banyak tumbuh di daerah Cilegon, Banten. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis senyawa alkaloid dan flavonoid dari ekstrak kitolod dan melakukan uji antibakteri terhadap bakteri penyebab karies gigi. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Pengujian antibakteri dengan metode Kirby-Bauer. Berdasarkan hasil uji pendahuluan terdapat senyawa Alkaloid dan flavonoid dalam tumbuhan kitolod dengan ditandai hasil positif. Ekstrak daun kitolod mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi 10000 ppm sebanyak 9,5 mm; 5000 ppm sebanyak 9,0 mm; dan 2000 ppm sebanyak 6,7 mm.

Kata kunci: kitolod, alkaloid, dan flavonoid

ABSTRACT

*One of the most potential and unexplored plants is the kitolod plant. Kitolod plants grow a lot in the area of Cilegon, Banten. This study aims to analyze the alkaloid and flavonoid compounds from kitolod extract and perform antibacterial tests against the bacteria that cause dental caries. The extraction is done by maceration method. Antibacterial testing by Kirby-Bauer method. Based on preliminary test results there are compounds of Alkaloids and flavonoids in plant kitolod with marked positive results. Kitolod leaf extract has antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis* bacteria at concentration of 10000 ppm as much as 9.5 mm, 5000 ppm as much as 9.0 mm, and 2000 ppm as much as 6.7 mm.*

Key words: kitolod, alkaloid, and flavonoid

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

1. PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut terutama karies di Indonesia merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang sering ditemukan di rongga mulut. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2003 menyatakan angka kejadian karies pada anak masih sebesar 60-90%. Persentase karies di Indonesia masih menduduki peringkat keenam penyakit yang paling banyak diderita masyarakat Indonesia. Kesadaran masyarakat Indonesia akan kesehatan gigi dan mulut masih tergolong rendah. Data estimasi olahan Pusdatin tentang penduduk usia 15 tahun ke atas sebesar 176.689.336 jiwa. Bila dikonversi dengan angka 53,2% ini berarti di Indonesia terdapat 93.998.727 jiwa yang menderita karies aktif. Prevalensi karies aktif 53,2% ini memiliki indeks DMF-T (*Decay Missing Filling-Tooth*) secara nasional sebesar 4,85. Artinya rata-rata kerusakan gigi pada penduduk Indonesia adalah 5 buah gigi per orang. Indeks DMF-T sebagai indikator status kesehatan gigi, merupakan penjumlahan dari indeks D-T, M-T, dan F-T yang menunjukkan banyaknya kerusakan gigi yang pernah dialami seseorang baik berupa *decay/D* (gigi karies atau gigi berlubang), *missing/M* (gigi dicabut), dan *filling/F* (gigi ditambal) (Purnakarya & Ramayanti, 2013).

Indonesia diperkirakan memiliki 30.000 jenis tumbuhan dari 40.000 jenis yang tersebar di seluruh dunia. Sekitar 9.600 di antaranya dilaporkan sebagai tumbuhan obat dan sekitar 300 jenis tumbuhan sudah digunakan sebagai obat tradisional (Roslizawati *et al.*, 2013).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi dan belum banyak diteliti adalah tumbuhan kitolod (*Isotoma longiflora*). Penelitian Hamidy *et al.*, (2006) mengungkapkan hasil penapisan fitokimia ekstrak daun, bunga dan batang kitolod mengandung senyawa golongan fenolik, flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Aktivitas Alkaloid dan flavonoid telah dilaporkan memiliki banyak efek farmakologi diantaranya: antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antidiabetes, antibakterial, antimalaria, antitumor, antimikroba, antifungi, antiinsektisida, dan antiseprik. Senyawa alkaloid dan flavonoid memiliki aktivitas yang tinggi terhadap bakteri penyebab karies gigi. Ekstrak metanol kitolod juga dilaporkan

memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Adanya penemuan kandungan senyawa golongan alkaloid dan flavonoid pada kitolod menjadi alasan perlu dilakukan penelitian uji ekstrak metanol dan etil asetat kitolod terhadap bakteri penyebab karies gigi yaitu *Streptococcus mutans*.

2. BAHAN DAN METODE

Alat dan bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan kitolod (*Isotoma longiflora*) yang didapatkan dari desa Cigading, Cilegon-Banten. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium kimia. Selain itu, digunakan peralatan pendukung lainnya seperti alat maserasi, *rotary evaporator* tipe R 144 Buchi yang dilengkapi dengan B 169 *vacuum system* Buchi, corong pisah. Peralatan HPLC dan spektroskopi IR.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya adalah: berbagai jenis pelarut organic yaitu *n*-heksana, etila setat, etanol, metanol, MTC dan air. Media Mueller Hilton dan bacto agar untuk pengujian antibakteri dan Strain bakteri *S. mutans*.

Uji aktivitas antibakteri metode Kirby Bauer

Peremajaan bakteri

Masing-masing sejumlah satu ose bakteri (*Streptococcus mutans*) dari stock diinokulasikan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi suspensi NaCl fisiologis sebanyak 5 mL hingga mencapai tingkat kekeruhan $\frac{1}{2}$ Mac Farland. Pencapaian kekeruhan dilakukan dengan cara membandingkan dengan standar kemudian diinkubasi selama 16 – 18 jam pada 37 °C.

Pengujian sampel, kontrol positif dan kontrol negatif

Kapas lidi dicelupakan dalam suspensi bakteri lalu dioleskan pada permukaan media agar hingga merata, selanjutnya sebanyak 50 μ L sampel, 50 μ L senyawa standar, kontrol positif (antibiotik) dan kontrol negatif (metanol)

E-mail: jurnal.itekima@stack.ac.id

diteteskan pada kertas samir (*disk*) kemudian diletakkan di atas media agar, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam, diameter zona bening di sekitar *disk* diamati dan diukur dengan penggaris dalam satuan (mm).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Pengambilan sampel daun kitolod

Daun kitolod segar yang didapatkan dari Jl. Kawasan Industri Krakatau Steel 42445 Banten yaitu sebanyak 8000 g berat basah. Tanaman kitolod diambil helaian daunya saja. Daun kitolod yang digunakan adalah daun yang segar yang langsung dipetik dari tanaman liar.

b. Penyiapan simplisia daun kitolod

Daun kitolod dikeringkan pada suhu kamar selama 1 minggu. Proses pengeringan dilakukan pada suhu kamar, terawasi, dan tidak terpapar matahari langsung. Hal ini bertujuan untuk mencegah perubahan kimia, menghentikan reaksi enzimatik (penguraian bahan kimia) dan mengurangi kandungan air dari simplisia agar tidak mudah ditumbuhi jamur. Setelah betul-betul kering simplisia dapat disimpan dalam jangka waktu lama sebelum digunakan untuk analisis (Harborne, 2006). Dari proses pengeringan diperoleh serbuk daun kitolod sebanyak 1500 g.

c. Ekstraksi

Ekstraksi bertujuan untuk mengisolasi komponen yang terdapat dalam bahan alam menggunakan pelarut tertentu. Sampel daun kitolod yang akan diekstrak berbentuk serbuk karena dapat meningkatkan efektifitas ekstraksi. Hal tersebut dapat terjadi karena semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka semakin besar kontak yang terjadi antara bahan dengan pelarutnya.

Serbuk daun kitolod diekstraksi dengan metode maserasi selama 2 x 48 jam menggunakan pelarut metanol 96%. Metode maserasi dipilih untuk meghindari rusaknya senyawa-senyawa aktif pada daun kitolod yang tidak tahan terhadap suhu yang panas. Penggunaan pelarut metanol dalam maserasi terutama ekstraksi

bahan alam, karena metanol merupakan pelarut universal. Metanol memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH₃) yang dapat menarik analit-analit yang bersifat polar dan nonpolar (Astarina *et al.*, 2013).

Ekstrak kasar yang diperoleh dari proses maserasi sebanyak 7 L kemudian dievaporasi untuk menguapkan sisa pelarut. Hasil dari evaporasi ini akan menghasilkan ekstrak kering dalam bentuk seperti gel (kental) yang nantinya akan diuji kembali untuk menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antibakteri. Pemekatan dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C untuk mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan komponen bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak (Tuyet & Chuyen, 2007). Proses evaporasi yang telah dilakukan menghasilkan ekstrak kering daun kitolod sebanyak 9 g dan ekstrak basah sebanyak 48 g. Persentase rendemen simplisia sebesar 18,75% dan ekstrak sebesar 46,66% yang didapatkan dari daun kesambi segar ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data rendemen daun kitolod (*Isotoma longiflora*)

No.	Bahan	Bobot (gram)	Rendemen (%)
1.	Daun Kesambi Segar	8000	-
2.	Simplisia	1500	18,75
3.	Ekstrak	700	46,66

d. Skrining fitokimia ekstrak metanol daun kitolod

Skrining fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam sampel secara kualitatif. Uji ini bertujuan untuk menentukan golongan utama dari senyawa aktif ekstrak metanol daun kitolod yang memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri daun dan bunga kitolod diduga karena adanya senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Dalimartha, 2008). Uji alkaloid dan flavonoid yang termasuk dalam golongan metabolit sekunder dilakukan pada penelitian ini.

Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan digunakan untuk mempertahankan diri dari musuh tetapi dalam dosis tertentu dapat digunakan sebagai obat.

Ekstrak kering daun kitolod diidentifikasi menggunakan pereaksi-pereaksi yang dapat menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan flavanoid. Tabel 2 berikut menunjukkan hasil uji fitokimia senyawa alkaloid dan flavanoid ekstrak daun kitolod.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak daun kitolod

Jenis Uji	Pengamatan	Warna	Hasil
Alkaloid	Terbentuk endapan jingga.	Jingga-merah	Negatif
	Terbentuk endapan, kemudian endapan larut dalam alkohol.	-	Positif
	Terbentuk endapan jingga.	Jingga	Positif
Flavonoid	Terjadi perubahan menjadi orange	Jingga	Negatif
	Terjadi perubahan menjadi coklat tua	Coklat	Positif
	Terjadi perubahan menjadi hijau lumut	Hijau	Positif

e. Flavonoid

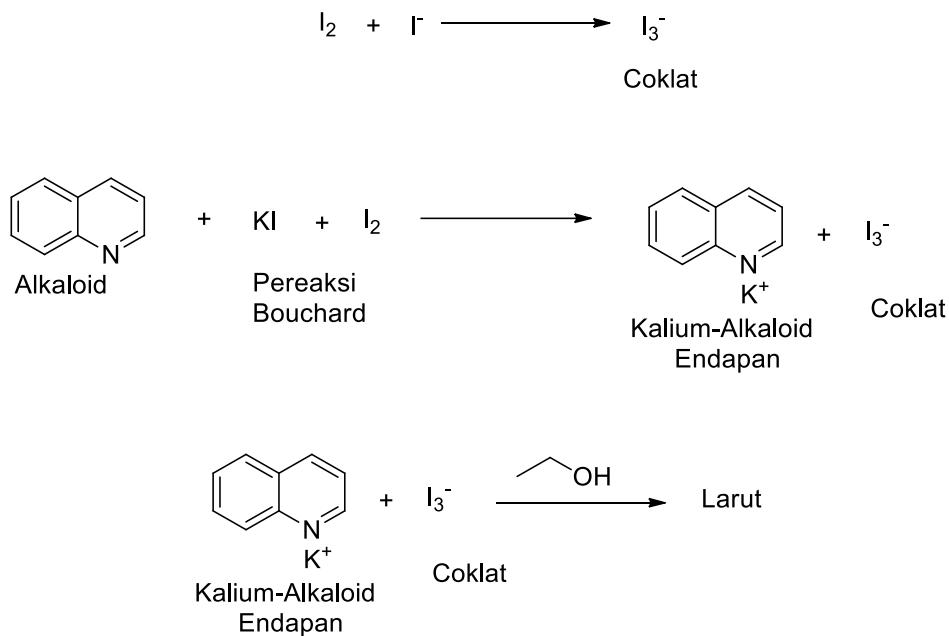
Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol dan umumnya terdapat dalam tumbuhan dalam bentuk aglikon maupun terikat pada gula sebagai glikosida (Middleton & Chitan, 1994). Harborne (2006) menyatakan bahwa flavonoid memegang peranan penting dalam biokimia dan fisiologi tanaman, di antaranya berfungsi sebagai mengatur pertumbuhan, juga sebagai antioksidan dan antibakteri. Hal ini dikarenakan flavonoid memiliki spektrum aktivitas antibakteri yang luas dengan mengurangi kekebalan pada organisme sasaran (Naidu, 2000).

Uji flavonoid dengan menggunakan reagen NaOH memberikan hasil yang positif ditandai dengan adanya perubahan warna dari hijau tua menjadi hijau lumut. Kemudian sampel diuji lagi dengan pereaksi H₂SO₄ memberikan hasil yang positif, ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat tua.

f. Alkaloid

Alkaloid merupakan zat yang mempunyai kecenderungan menghambat pertumbuhan bakteri, mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan zat aktif dari tanaman yang berfungsi sebagai obat (Harborne, 2006). Hasil

identifikasi positif mengandung senyawa alkaloid pada uji menggunakan pereaksi Bouchard ditandai dengan terbentuknya endapan yang larut dalam alkohol.



Gambar 1. Reaksi uji alkaloid dengan pereaksi Bouchard

g. Uji antibakteri

Hasil ekstrak kitolod kemudian dilakukan pengujian uji antibakteri untuk melihat aktivitas dan menentukan potensi dari hasil ekstrak terhadap bioindikator. Bioindikator yang digunakan untuk uji antibakteri adalah *Sreptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis*, serta media agar yang digunakan ialah media MH (Mueller Hilton). Media ini dipilih karena bakteri dapat tumbuh secara cepat di media tersebut sehingga sangat mudah untuk melakukan pengujian antibakteri. Kontrol positif untuk pengujian antibakteri ini adalah amoxilin dan kontrol negatif adalah metanol : air (3:1). Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kitolod terhadap bakteri *Sreptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis* ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kitolod

Sampel	Zona hambat (mm) pada konsentrasi (ppm)								
	10000			5000			2000		
	Ke-1	Ke-2	Rataan	Ke-1	Ke-2	Rataan	Ke-1	Ke-2	Rataan
Kitolod	9,4	9,5	9,5	9,0	9,0	9,0	6,6	6,8	6,7
Amoxilin*	Td	Td	Td	Td	Td	Td	18,2	18,0	18,1

*) Kontrol positif (Amoxilin) Td : tidak diujikan

*) Kontrol negatif metanol : air (3:1)

Hasil pengujian bakteri *Streptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis*, pada konsentrasi 10000 ppm, 5000 ppm dan 2000 ppm dengan dua kali pengulangan. Sampel kitolod menunjukkan adanya efek antibakteri sangat kuat dengan zona hambat sebesar 9,5 mm pada konsentrasi 10000 ppm dan pada konsentrasi 2000 ppm menunjukkan adanya efek antibakteri sangat lemah dengan zona hambat sebesar 6,7 mm. Sedangkan pada kontrol positif amoxilin menunjukkan nilai zona hambat paling kuat sebesar 18,1 mm pada konsentrasi 2000 ppm karena memiliki spektrum yang luas dalam menghambat bakteri.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji pendahuluan terdapat senyawa alkaloid dan flavonoid dalam tumbuhan kitolod dengan ditandai hasil positif. Ekstrak daun kitolod mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi 10000 ppm sebanyak 9,5 mm; 5000 ppm sebanyak 9,0 mm; dan 2000 ppm sebanyak 6,7 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Astarina NWG, Astuti KW, & Warditiani NK. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). Universitas Udayana.
- Bajpai VK, & Kang SC. 2010. Antibacterial abietane-type diterpenoid taxodone. *Journal Biosci.* 35(4): 533-538.
- Basirun. 2010. Efek antiinflamasi ekstrak daun dan bunga kitolod (*Isotoma longiflora*) terhadap inflamasi buatan pada tikus putih jatah galur Wistar. [Tesis]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

- Cowan MM. 1999. Plant product as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12 (4): 564-582.
- Daisy P, Mathew S, Suveena S, Nirmala A, & Rayan. 2008. A novel terpenoid from *Elephantopus scaber* antibacterial activity on *S. Aureus*: substantiate computational approach. Biofarmatic Centre (BIF). Depatement Biotechnology & Biofarmatic, Tepaculam, Tiruchirapalli: 620002, India (196-203).
- Dalimartha S. 2008. Atlas Tumbuhan obat Indonesia: menguak kekayaan tumbuhan obat Indonesia. Jakarta: Niaga Swadaya.
- Defrin DP, Rahimah SB, & Yuniarti L. 2010. Efek anti diare ekstrak air umbi sarang semut (*Myrmecodia pendans*) pada Mencit Putih. *Proceeding SNAPP*: 2089-3582.
- Edward PC, & Kanjirath P. 2010. Dental caries and tooth pain. *J. AmBoard Fam Med.* 23(3): 285-294.
- Harborne JB. 2006. Metode fitokimia: penentuan cara modern menganalisis tumbuhan, terjemahan K. Pandawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Herijulianti E. 2001. Pendidikan kesehatan gigi. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Joycharat N, Sonesay T, Surasak L, Sirilux H, Supayang PV, Boon-ek Y, Sukanya D, & Sanan S. 2013. Antibacterial substances from *Albizia myriophylla* wood against cariogenic *Streptococcus mutans*. *Arch. Pharmacal Research* (2013) 36: 723–730.
- Kidd EAM, & Bechal SJ. 1991. Dasar-dasar karies, penyakit dan penanggulangannya, cetakan I. Jakarta: EGC.
- Marianjancyrani J, Chandramohan G, Saravanan, & Elayaraja A. 2013. Isolation and antibacterial activity of terpenoid from *Bougenvilla glabra* choicy leaves. *Pelagia Reseach Library*. 3 (3): 70-73.
- Marsh PD, & Martin MV. 2009. Oral microbiology 5th ed. London: Elsevier.

- Featherstone JD, Duncan JF, & Cutress TW. 1979. A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during *in vitro* caries simulation human tooth enamel. *Archsoral Biol.* 24: 101-112.
- Middleton E, & Chitan K. 1994. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implication for immunity, inflammation, and cancer. Di dalam: Harborne JB (ed) *The Flavonoids*. London: Chapman and Hall.
- Naidu AS. 2000. Natural food antimicrobial system. CRC Press. USA.
- Nick A, Anthony D, Wright, Rali T, & Sticher O. 1995. Antibacterial triterpenoid from *Dillenia papuana* and their structure activity relationship. *Phytochemistry* 40: 1691-1695.
- Nishino C, Enoki N, Tawata S, Mori A, Kobayashi K, & Fukushima M. 1987. Antibacterial activities of flavonoids against *Staphylococcus epidermidis*, a skin bacterium. *Agricultural & Biological Chemistry*. 51,139-143.
- Pelczar MJ, & Chan ECS. 1988. Dasar-dasar mikrobiologi Jilid 2. Terjemahan Hadioetomo RS. Jakarta: UI-Press.
- Peng Q, Zhi-Xiang F, Jie-Wei T, Zu-Chao L, Lei W, Zhi-Gang Z, Yi-Wen C, & Young-Qiang T. 2015. Diversity, bioactivities, and metabolic potentials of *Endophytic actinomycetes* isolated from traditional medicinal plants in Sichuan. *CJNM*, 12, 13. China.
- Purnakarya I, & Ramayanti S. 2013. Peran makanan terhadap kejadian karies gigi. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* vol. 7 no. 2.
- Roslizawati, Ramadhan NY, Fakrurrazi, & Hernialtian. 2013. Antibacterial activity of ethanol extract and stew of antplant (*Myrmecodia sp.*) against Bacteri *E. coli*. *Medika Valeninaria*.7 (2): 0853- 1915.
- Sulistyaningsih, Sri AFK, & Arif SWK. 2011. Antibacterial activity test of antplant stem tuber ethanol extract (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) against *Shigella dysentriae* and *Klebsiella pneumonia*. *Proceedings of the 2nd International Seminar on Chemistry*.pp: 397-400.

- Sunaryanto R, & Mahsunah H. 2013. Isolation, purification, and characterization of antimicrobia substance from *Endophytic actinomycetes*. *Makara J. Sci.* 17, 3, 92-87.
- Tuyet T, & Chuyen NV. 2007. Antihiperglycemic activity of an aqueous extract from flower buds of *Clistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry. *Biosci Biotechnol Biochem.*