

AKTIVITAS ANTIBAKTERI HASIL FRAKSINASI EKSTRAK DAUN BOGENVIL (*Bougainvillea spectabilis* W.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* ATTC 25175 DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI

ANTIBACTERIAL ACTIVITY RESULTS OF EXTRACINATION BOGENVIL LEAF (*Bougainvillea spectabilis* W.) AGAINST *Streptococcus mutans* ATTC 25175 BACTERIA WITH METHODS TLC BIOAUTOGRAPHY

**Asti Vebriyanti Asjur^{1*}, Chikita Inaku¹, Muhammad Akmal A. Sukara¹,
Nasrawati Basir¹, Deolindo¹**

¹Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky
Makassar Jl. Antang Raya No. 43 Makassar, Sulawesi Selatan

*EmailCorresponding: astivebriyantiasjur@gmail.com

Submitted: 9 November 2022

Revised: 11 May 2023

Accepted: 6 June 2023

ABSTRAK

Daun Bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) adalah tanaman hias yang sangat bermanfaat karena memiliki kandungan senyawa yang bersifat antibakteri. Kandungan tersebut yang akan digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Karies gigi merupakan penyakit infeksi pada jaringan keras gigi yang disebabkan oleh bakteri khususnya bakteri *Streptococcus mutans* ATTC 25175, dimana mengubah polisakarida yang melekat pada permukaan gigi menjadi asam dan terjadi kehilangan mineral sehingga permukaan gigi rusak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri hasil fraksinasi ekstrak daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) dengan mengetahui zona hambat yang diperoleh menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis Bioautografi. KLT bioautografi merupakan metode untuk mengidentifikasi senyawa yang bersifat antibakteri dengan memanfaatkan kromatografi lapis tipis. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan lempeng kromatogram hasil elusi dengan pelarut n-butanol : asam asetat : air pada perbandingan 4 : 1 : 5 sebanyak tiga kali perlakuan. Hasil uji aktivitas antibakteri dari fraksi air, n-heksan dan etil asetat daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) diperoleh zona hambat tiap perlakuan yaitu pada perlakuan replikasi 1 fraksi air, n- heksan dan etil asetat dengan rerata zona hambat 5,1 mm, 4,2 mm dan 4,4 mm perlakuan replikasi 2 fraksi air, n- heksan dan etil asetat rerata zona hambat 4,93 mm, 3,86 mm dan 3,38 mm dan pada perlakuan replikasi 3 fraksi air, n- heksan dan etil asetat dengan rerata zona hambat 5,06 mm, 4,0 mm dan 4,13 mm. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa fraksi air daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATTC 25175 dan fraksi air daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) memberikan efektivitas terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATTC 25175 dengan menggunakan metode KLT bioautografi.

Kata kunci : Antibakteri, Daun Bogenvil, Fraksi Air, KLT, Bioautografi

ABSTRACT

Bogenvil leaf (*Bougainvillea spectabilis* W.) is an ornamental plant that is very useful because it contains antibacterial compounds. The content will be used to inhibit the growth of bacteria. Dental caries is an infectious disease of the hard tissues of the teeth caused by bacteria, especially *Streptococcus mutans* ATTC 25175, which converts polysaccharides attached to the tooth surface into acid and minerals loss occurs so that the tooth surface is

damaged. This study aims to determine the antibacterial activity of the fractionated leaf extract of bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) by knowing the zone of inhibition obtained using the Bioautography Thin Layer Chromatography method. TLC bioautography is a method to identify antibacterial compounds by using thin layer chromatography. Antibacterial activity test using chromatogram plate elution result with the solvent n-butanol: acetic acid: water in a ratio of 4: 1: 5 for three treatments. The results of the antibacterial activity test of the water, n-hexane and ethyl acetate fractions of bogenvil leaf (*Bougainvillea spectabilis* W.) obtained an inhibition zone for each treatment, namely in the replication treatment of 1 water fraction, n-hexane and ethyl acetate with an average inhibition zone of 5.1 mm, 4.2 mm and 4.4 mm in the replication treatment of 2 water fractions, n-hexane and ethyl acetate the mean inhibition zones were 4.93 mm, 3.86 mm and 3.38 mm and in the replication treatment 3 water fractions, n-hexane and ethyl acetate with an average inhibition zone of 5.06 mm, 4.0 mm and 4.13 mm. From this research, it can be concluded that the water fraction of bogainvillea (*Bougainvillea spectabilis* W.) has antibacterial activity against the growth of *Streptococcus mutans* ATTC 25175 bacteria and the water fraction of bogainvillea (*Bougainvillea spectabilis* W.) provides effectiveness against the bacteria *Streptococcus mutans* ATTC 25175 using the bioautography TLC method.

Keywords: Antibacterial, Bogenvil Leaf, Water Fraction, TLC, Bioautography

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan suatu penyakit infeksi yang terjadi pada jaringan keras gigi yang disebabkan oleh bakteri khususnya bakteri golongan *Streptococcus*, dimana polisakarida yang melekat pada permukaan gigi diubah oleh bakteri tersebut menjadi asam dan terjadi kehilangan mineral atau demineralisasi pada jaringan keras gigi sehingga terjadi kerusakan jaringan pada permukaan gigi dan meluas ke bagian lebih dalam dari gigi. Penyebab utama terjadinya karies gigi yaitu bakteri *Streptococcus mutans* ATTC 25175 yang bersifat asidogenik atau penghasil asam dan bersifat asidurik atau mampu tinggal di lingkungan asam (Dewi et al., 2015 ; Tameon et al., 2021).

Penyakit karies gigi paling banyak menyerang anak-anak 5 tahun dengan tingkat prevalensi cukup tinggi kurang lebih 50%, dari peningkatan prevelensi sampai pada kondisi yang sangat parah dapat mengganggu sisten pengolahan makanan dalam mulut. Berdasarkan penelitian salah satu peniliti di Amerika Serikat bahwa prevelensi *Early Childhood Caries* (ECG) atau karies anak usia dini, pada anak umur 3-5 tahun sebesar 90% (Ayu et al., 2017).

Menurut RISKESDAS atau Riset Kesehatan Dasar tahun 2018, bahwa prevelensi penyakit karies gigi yang terjadi di Indonesia sebesar 93% pada anak-anak. Dengan demikian, dapat diartikan bahwa 7% dari anak-anak di Indonesia tidak mengalami karies gigi (Gerung et al., 2021).

Tanaman bogenvil atau lebih dikenal dengan sebutan daun bunga diyakini masyarakat indonesia memiliki khasiat untuk menyembuhkan penyakit hepatitis, bisul, nyeri haid dan keputihan. Ekstrak tanaman ini bogenvil dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi, antihiperkemik. Senyawa biokatif ekstrak daun dan bunga bogenvil memiliki aktivitas antibakteri (Nugroho et al., 2017). Kandungan senyawa berupa flavanoid, glikosida, tanin, fenol, alkaloid, steroid dan terpenoid. Adapun khasiat dan manfaat dari tanaman bunga dan daun bogenvil yaitu antioksidan, antiinflamasi, antiulcer, antidiabetes, antidiarrhoeal dan antimikroba (Palupi et al., 2020).

Berdasarkan penelitian (Palupi et al., 2020) bahwa ekstrak daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) mempunyai aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 3% dengan zona hambat sebesar 8,95 mm, konsentrasi 9% dengan zona hambat sebesar 10, 45 mm, konsentrasi 12% dengan zona hambat sebesar 10,00 mm, konsentrasi 15% dengan zona hambat sebesar 12,45 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan beberapa penelitian tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri dari hasil fraksinasi ekstrak metanol daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) terhadap *Streptococcus mutans* ATTC 25175 dengan metode KLT bioautografi.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan dalam artikel ini adalah eksperimental laboratorium dengan fraksinasi metanol daun bogenvil (*Bougenvillea spectabilis* W.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Alat dan Bahan

Autoklaf, chamber, inkubator, kaki tiga, kawat kasa, LAF, lampu spiritus, lampu UV 254 dan 365 nm, oven, penangas air, rotavapor, sendok tanduk, spuit 1 mL, spuit 5 ml, spuit 10 mL, timbangan analitik Aquades (shagufta) , dietil eter (indoreagen), DMSO (dimetil sulfoksida)(emplura) , etil asetat (merck), HCl (indoreagen) , kloroform(merck) , metanol (merck), silika gel 60 GF254 (merck), medium nutrient agar (NA)(merck), sampel fraksi ekstrak daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.), natrium klorida (NaCl) 0,9% (Merck), N-heksana(merck) , N-butanol (smart lab), etil asetat (Merck), aluminium klorida (smart lab), kloroform (polylab) , besi klorida (FeCl₃) (Merck), Dragenddor (merck) f, H₂SO₄ (Merck), larutan Liebermann-Burchard (Nitrokimia).

Prosedur Penelitian

1. Pengolahan Simplisia

Daun bogenvil (*Bougenvillea spectabilis* W.) yang sudah dipetik dapat dilakukan sortasi basah. Daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai kering. Kemudian dilakukan sortasi kering. Setelah itu, sampel dihaluskan dan serbuk siap diekstraksi ([Lady Yunita Handoyo & Pranoto, 2020](#)).

2. Ekstraksi Sampel

Pembuatan ekstrak daun bogenvil (*Bougenvillea spectabilis* W.). Serbuk simplisia yang telah halus ditimbang kurang lebih 500 gram dimasukkan dalam wadah kaca yang tertutup rapat. Kemudian, diberi pelarut metanol sebanyak 3,25 L. Proses ekstraksi secara maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dengan pergantian pelarut yang sama setiap 24 jam dan dilakukan pengadukan menggunakan stirer sesering tiap hari. Setelah itu dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur 65°C hingga diperoleh ekstrak kental ([Munte et al., 2016](#); [Lovianie et al., 2019](#)).

3. Skrining Fitokimia

a. Senyawa Flavanoid

Ekstrak kental daun bogenvil (*Bougenvillea spectabilis* W.) ditimbang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan aquades secukupnya dan ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 mg. kemudian, ditambahkan HCl sampai berubah warna. Hasil positif mengandung flavanoid jika terbentuk warna *orange*, merah bata atau kuning ([Frastika et al., 2017](#)).

b. Senyawa Alkaloid

Ekstrak kental daun bogenvil (*Bougenvillea spectabilis* W.) ditimbang sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah dengan HCl 2 mL dan dipanaskan di atas penangas air sambil diaduk, kemudian didinginkan hingga suhu kamar. NaCl serbuk ditambahkan, diaduk dan disaring. Kemudian filtrat ditambah HCl 2 mL. Setelah itu ditambahkan pereaksi Wagner sebanyak 3 tetes. Hasil positif mengandung alkaloid jika terbentuk warna coklat ([Frastika et al., 2017](#)).

c. Senyawa Tanin

Ekstrak kental daun bogenvil (*Bougenvillea spectabilis* W.) ditimbang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 10 mL. Kemudian, disaring dan ditambahkan reagen FeCl₃. Hasil positif mengandung tanin jika terdapat warna hijau atau biru kehitaman ([Frastika et al., 2017](#)).

4. Fraksinasi

Fraksinasi sampel dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah. Dengan menggunakan tiga pelarut yaitu n-heksan, etil asetat, dan air. Ekstrak kental

ditimbang sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer dan dilarutkan dengan air sebanyak 100 mL. Kemudian, larutan sampel dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL. Setelah itu, digojok sampai homogen. Kemudian, sampel larutan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan air dan n-heksan. Keluarkan lapisan air dan n-heksan ditampung dalam gelas kimia. Setelah itu, Lapisan air dimasukan dan dilakukan pelungan dengan pengerjaan yang sama untuk etil asetat. Ketiga Hasil Fraksi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental (Aslah *et al.*, 2019).

5. Uji kandungan senyawa flavanoid

Masing – masing hasil fraksi diuji kandungan flavanoid daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) dipipet sebanyak 5 ml masing masing fraksi dan ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 mg. kemudian, ditambahkan HCl sampai berubah warna. Hasil positif mengandung flavanoid jika terbentuk warna *orange*, merah bata atau kuning (Frastika *et al.*, 2017).

6. Sterilisasi Alat

Sebelum alat-alat digunakan dicuci terlebih dahulu dilakukan sterilisasi agar tidak terjadi kontaminasi. Alat-alat yang bersifat kaca atau gelas dibungkus dengan menggunakan kertas hvs putih dan disterilkan dalam oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat yang bersifat karet dan plastik disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Dan alat-alat yang bersifat logam disterilkan dengan menggunakan lampu spiritus atau bunsen selama 0,5 menit (Wahyuningsih *et al.*, 2020).

7. Pembuatan Media Nutrient Agar

Ditimbang *nutrient agar* (NA) sebanyak 0,56 gram dimasukkan dalam gelas erlenmeyer. Kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 20 mL. Setelah itu dipanaskan sampai larut. Kemudian disterilkan selama 15 menit dalam *autoklaf* pada suhu 121°C (Kadir *et al.*, 2021).

8. Peremajaan Kultur Murni

Biakan murni bakteri *Streptococcus mutans* ATTC 25175 yang diambil dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar dan diinokulasi dengan cara digoreskan pada *agar* miring dengan menggunakan ose bulat dalam medium *nutrient agar* (NA) secara aseptis. Kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Wahyuningsih *et al.*, 2020).

9. Pembuatan suspensi Bakteri

Bakteri hasil peremajaan diambil satu ose pada media nutrient agar. Kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi dengan cairan NaCl 0,9% dan dikocok sampai homogen. Adanya bakteri ditandai dengan kekeruhan (Kadir *et al.*, 2021).

10. Pengujian KLT

a. Persiapan kromatografi lapis tipis

Fase gerak yang digunakan adalah eluen n-butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 4 : 1 : 5 Eluen dimasukkan ke dalam *chamber* untuk dijenuhkan selama 10 menit dengan menggunakan kertas saring. Tujuannya untuk membuat tekanan uap pada seluruh bagian bejana menjadi sama. Sebelum dilakukan pemisahan senyawa dari fraksi daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.). Terlebih dahulu dibuatkan plat silika gel sebagai fase diamnya dengan ukuran 1 × 7 cm. Kemudian diberi tanda garis pada tepi atas dan bawah plat dengan jarak 1 cm dengan menggunakan pensil. Diberikan penanda dengan tujuan menunjukkan posisi awal tolotan dan tepi atas sebagai tanda batas dari proses elusi. Setelah itu plat silika Gel yang sudah jadi diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven selama 10 menit pada suhu 105°C. Tujuannya untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat KLT (Aslah *et al.*, 2019).

b. Penotolan Sampel Fraksi

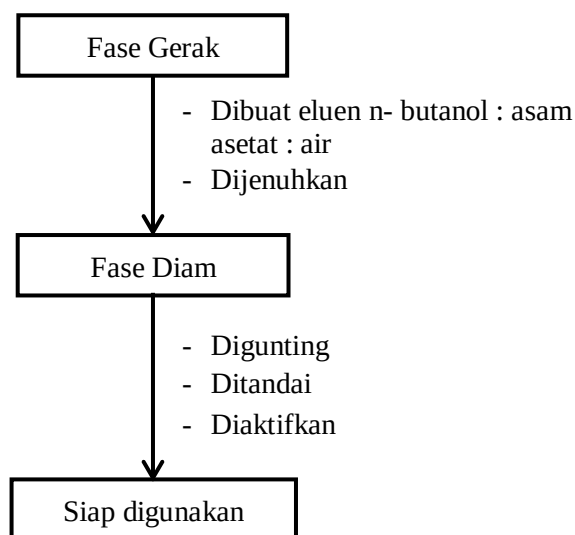
Fraksi daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) dibuat dengan konsentrasi 10% atau 0,5 gram. Kemudian, ditotolkan pada lempeng KLT yang telah diaktifkan.

Setelah itu dimasukkan dalam *chamber* yang telah ada eluen kemudian ditunggu sampai proses elusi selesai (Putri *et al.*, 2017 ; Manguntungi *et al.*, 2016).

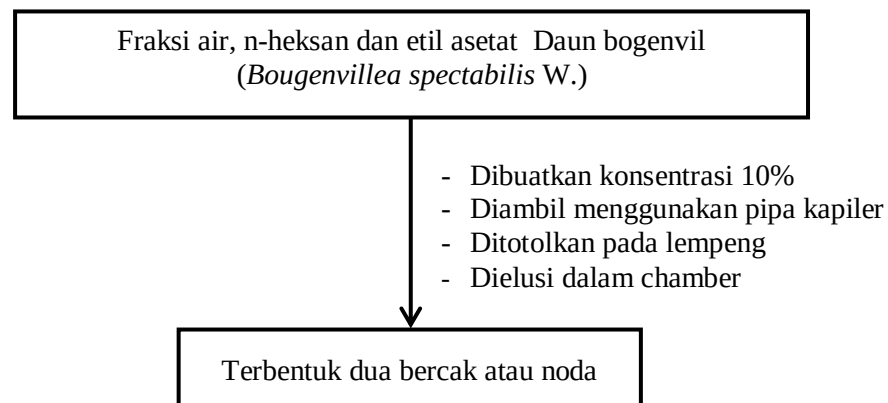
11. Pengujian KLT Bioautografi

Nutrient Agar ditimbang sebanyak 2,1 gram dan dimasukkan dalam erlenmeyer. Kemudian ditambahkan dengan aquadest sampai 75 mL dan dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Setelah itu, media NA yang telah jadi disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium diangkat dan dibiarkan sampai cukup dingin. Media nutrisi agar yang masih cair dituang ke dalam botol coklat sebanyak 15 mL. kemudian tambahkan bakteri suspensi 0,2 mL, selanjutnya homogenkan. Pengerjaan dilakukan secara aseptis. Setelah itu, dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. Kromatogram hasil pemisahan senyawa secara KLT dari fraksi daun *bougenvil* diletakkan masing-masing perlakuan diatas medium yang memadat. Untuk perlakuan kontrol positif menggunakan larutan obat eritrimisin sebanyak 20µL dengan cakram disk dan kontrol negatif menggunakan lempeng KLT kosong. Pada perlakuan dengan fraksi dilakukan tiga kali pengulangan. Setelah itu, didiamkan di dalam dilemari pendingin selama 60 menit. Kemudian, lempeng kromatogram diangkat dan dikeluarkan dari medium. Selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Diukur zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

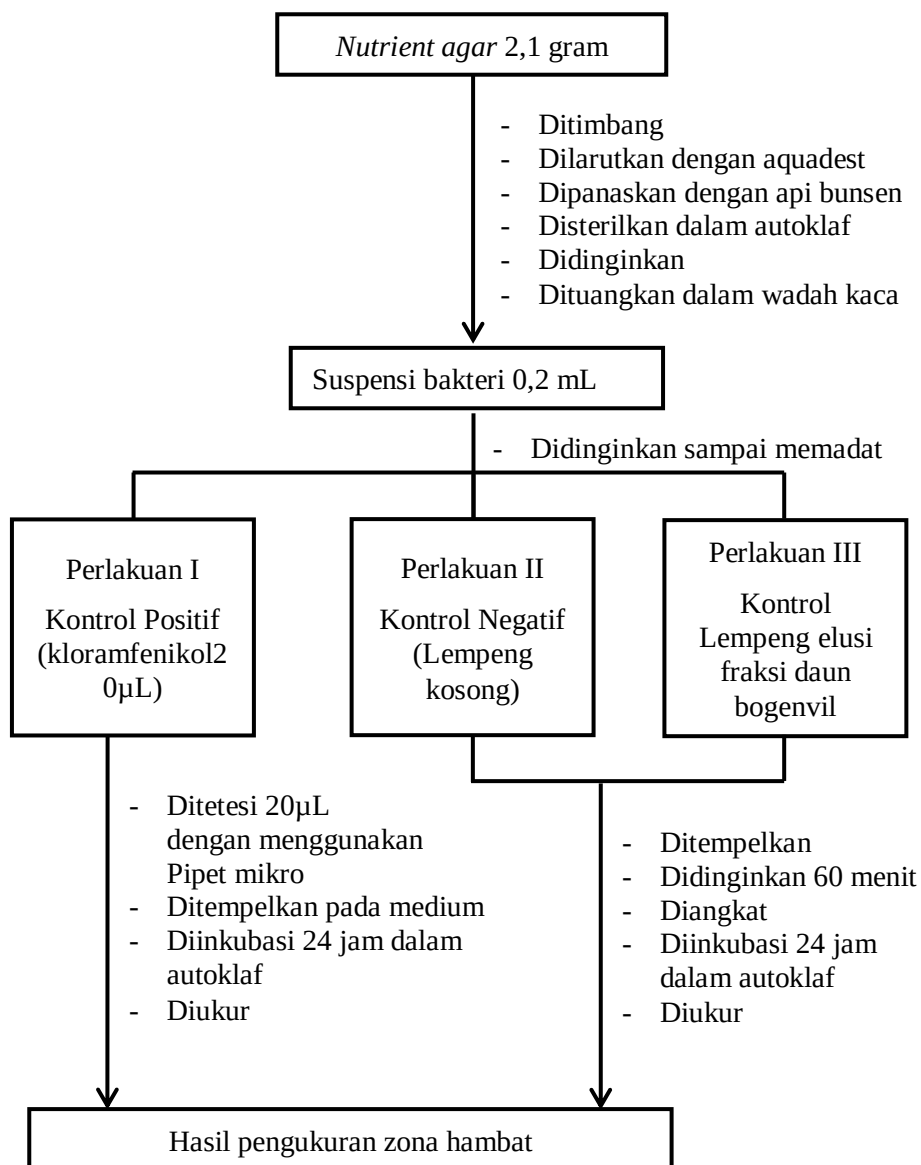
1. Pengujian KLT
 - a. Persiapan Kromatografi Lapis Tipis



b. Penotolan Sampel Fraksi



2. Pengujian KLT Bioautografi



Analisis Data

Data hasil pengukuran zona hambat yang diperoleh dari pengujian aktivitas antibakteri dilakukan uji normalitas untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak. Dan dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk mengetahui apakah data homogen atau seragam. Setelah data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan analisis data yang menggunakan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) merupakan tanaman hias yang berkhasiat sebagai antibakteri karena terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan tanin yang memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat maupun membunuh bakteri (Palupi *et al.*, 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas antibakteri fraksi air, n- heksan dan etil asetat daun Bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan kontrol positif kloramfenikol. Untuk melihat aktivitas konsentrasi antibakteri fraksi air daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* ATTC 25175 dengan menggunakan metode KLT bioautografi.

1. Hasil Ekstraksi Daun Bogenvil

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun Bogenvil (*Bougainvillea spectabilis*W.) yang diekstraksi menggunakan metode maserasi berulang. Metode maserasi berulang adalah metode dengan cara mengulangi perendaman dengan volume pelarut tertentu untuk mendapatkan banyak persen ekstrak. Dipilih metode maserasi karena menghindari rusaknya senyawa aktif yang tidak tahan terhadap panas dan dengan perendaman terjadi pemecahan dinding dan membran sel sehingga senyawa dapat ditarik keluar karena perbedaan konsentrasi pelarut dengan senyawa.

Tabel I. Hasil Rendamen

Sampel	Jenis Pelarut	Berat Sampel Kering	Berat Ekstrak Kental	Persen Rendamen
Daun Bogenvil	Metanol	500 gram	78,96 gram	15%

Pemilihan pelarut metanol karena mampu melarutkan senyawa fenol dalam ekstrak menjadi lebih banyak dan pelarut metanol merupakan pelarut yang bersifat cenderung semipolar sehingga kemampuan menarik senyawa secara berdasarkan tingkat kepolarannya bersifat universal. adi, dapat dikatakan bahwa pelarut metanol mampu mengekstraksi fenol dari daun bogenvil dengan lebih efektif karena memiliki kandungan fenol yang lebih besar (Susanti *et al.*, 2021). Rendamen adalah nilai perbandingan antara hasil ekstrak yang diperoleh dengan bobot awal simplisia hasil ekstrak daun bogenvil menghasilkan ekstrak metanol yang sangat kental sebanyak 78,98 gram dengan persen rendamen yang didapat yaitu rata rata 15% (Leba, 2017 ; Hasnaeni *et al.*, 2019 ; Ningsih *et al.*, 2020).

2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Bogenvil

Tabel II. Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Warna	Hasil
Alkaloid	Wagner	Coklat	+
Flavanoid	HCl	Kuning	+
Tanin	FeCl ₃ 5%	Hijau kehitaman	+

Keterangan :

(+) = Positif mengandung senyawa uji

(-) = Negatif atau tidak mengandung senyawa uji

Pada penelitian ini dilakukan pengujian skrining fitokimia ekstrakdaun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.). Pada pengujian alkaloid dengan menggunakan asam klorida pekat, serbuk NaCl dan reagen wagner menunjukkan terbentuknya warna coklat. Berdasarkan penelitian (Sianipar *et al.*, 2017) alkaloid dikatakan positif jika terbentuk endapan berwarna coklat. Pada pengujian flavanoid menggunakan pereaksi asam klorida pekat yang menunjukkan hasil yang diperoleh dengan terbentuk warna kuning. Berdasarkan penelitian (Nor *et al.*, 2018 ; Nugroho *et al.*, 2017). Flavanoid positif apabila terjadi perubahan warna menjadi merah bata, kuning, orange, atau merah keunguan. Pengujian tanin menggunakan reagen FeCl₃, hasil yang didapatterbentuknya warna hijau kehitaman. Berdasarkan penelitian (Hidayah *et al.*, 2016). Tanin dikatakan positif jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Berdasarkan penelitian (Nugroho *et al.*, 2017). Daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) terdapat senyawa tanin, alkaloid dan flavonoid.

3. Hasil Fraksi Air Daun Bogenvil

Tabel III. Hasil Fraksi Air

Ekstrak Sampel	Jenis fraksi	Bobot ekstrak	Hasil Fraksi
Daun Bogenvil	Fraksi air	10 gram	17,5 gram
	Fraksi N- heksan	10 gram	0,62 gram
	Fraksi Etil asetat	10 gram	0,57 gram

Pada penelitian ini uji selanjutnya yaitu fraksinasi yang merupakan metode ekstraksi secara cair-cair dengan menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi digunakan untuk memisahkan senyawa yang bersifat polar, non polar dan semi polar. Pelarut polar yang digunakan adalah air, karena air mampu menarik senyawa yang polar terutama senyawa flavanoid. Pelarut non polar yang digunakan yaitu n-heksan, n-heksan dapat menarik senyawa non polar. Pelarut etil asetat dapat memisahkan senyawa yang bersifat semi polar. Pelarut yang pertama digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah air yang kemudian dilanjutkan pelarut n-heksan dan pelarut yang terakhir yaitu etil asetat. Hasil fraksi air yang diperoleh dari proses fraksinasi sebesar 17,5 gram, fraksi n heksan sebesar 0,62 gram dan fraksi etil asetat sebesar 0,57 gram (Rengga, 2020). Berdasarkan penelitian (Mindawarnis, 2016). Fraksi air merupakan fraksi yang paling positif mengandung flavanoid dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat, dimana flavanoid merupakan senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti air.

4. Hasil Uji Kandungan Senyawa Flavanoid

Hasil Uji flavonoid dari ekstrak n-heksan, etil asetat, dan airdapat dilihat apda table 4.4. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak air yang paling positif mengandung flavonoid karena saat penambahan pereaksi, warna menunjukkan khas untuk senyawa flavonoid.

Tabel IV. Hasil Uji Senyawa Flavanoid

No	Fraksi	Senyawa Flavanoid	Warna
1.	N- Heksan	-	Hijau
2.	Etil Asetat	-	Hijau
3.	Air	+	Kuning

Keterangan :

(+) = Positif mengandung senyawa uji

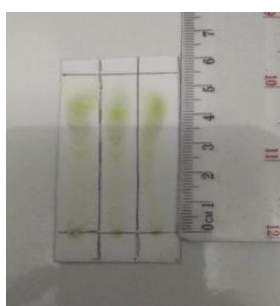
(-) = Negatif atau tidak mengandung senyawa uji

5. Hasil Profil KLT Fraksi Air Daun Bogenvil

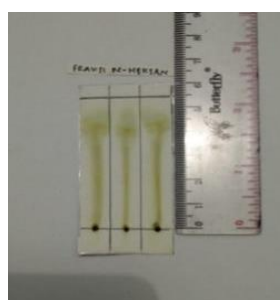
Tabel V. Hasil Profil KLT fraksi air Daun Bogenvil

Jenis Fraksi	Jumlah Bercak	Penampakan Bercak Pada					
		Visual		Sinar UV 254nm		Sinar UV 365nm	
		Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna
Fraksi Air	1 (Simplo)	0,49	Hijau	0,49	Kuning	0,6	Fluoresensi Merah kekuningan
	2 (Duplo)	0,76	Hijau	0,78	Kuning	0,76	Fluoresensi Merah kekuningan
Fraksi N-Heksan	1 (Simplo)	0,78	Hijau	0,78	Hijau	0,78	Fluoresensi Coklat kemerahan
Fraksi Etil asetat	1 (Simplo)	0,45	Hijau	0,45	Hijau	0,45	Fluoresensi Coklat kemerahan

Pada penelitian ini selanjutnya dilakukan uji kromatografi lapis tipis dimana dilakukan pemisahan senyawa yang akan ditentukan lewat nilai Rf yang didapat dan kemudian dibandingkan dengan senyawa flavanoid. Penentuan eluen dilakukan dengan cara melihat profil kromatografi dari setiap perbandingan eluen yang digunakan terhadap fraksi air, n – heksan dan etil asetat daun Bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) sampai mendapatkan hasil noda atau bercak yang terbentuk. Fraksi yang akan diujikan aktivitas antibakterinya terlebih dahulu dielusi dengan eluen n- butanol, asam asetat dan air dengan perbandingan 4 : 1 : 5, dimana eluen ini dapat memisahkan senyawa dalam fraksi dengan baik. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel yang bersifat polar sedangkan eluen yang digunakan sebagai fase gerak bersifat sangat polar akan menentukan nilai Rf. Penggunaan fase gerak ini sering digunakan untuk senyawa flavanoid (Mindawarmis *et al.*, 2016).



(a)



(b)



(c)

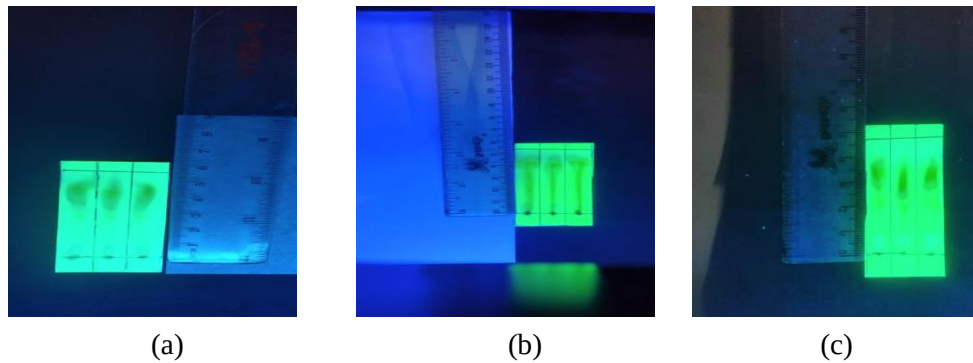
Gambar 1. Penampakan bercak atau noda dengan sinar langsung

Keterangan:

a = Fraksi air

b = Fraksi n heksan

c = Fraksi etil asetat



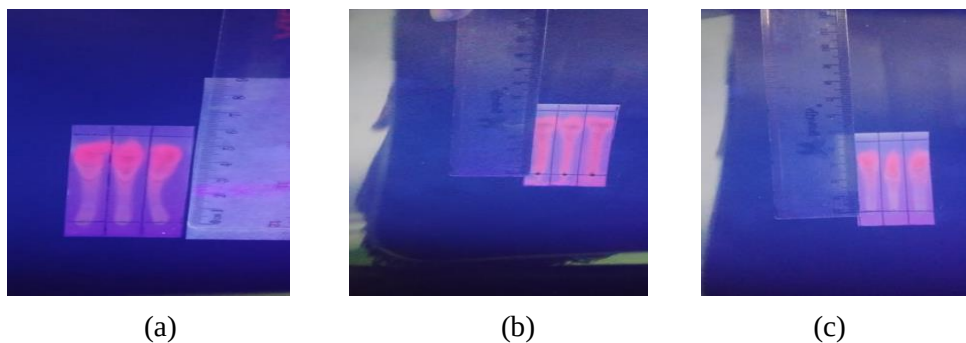
Gambar 2. Penampakan bercak atau noda dengan sinar UV 254 nm

Keterangan:

a = Fraksi air

b = Fraksi n heksan

c = Fraksi etil asetat



Gambar 3. Penampakan bercak atau noda dengan sinar UV 365 nm

Keterangan:

a = Fraksi air

b = Fraksi n heksan

c = Fraksi etil asetat

Hasil elusi dilihat dengan menggunakan sinar ultra violet dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Pada pengujian ini didapatkan hasil, untuk fraksi air didapatkan dua bercak atau noda pada lampu UV 254nm dengan nilai R_f 0,49 dan 0,76 yang berwarna hijau kekuningan dan pada sinar UV 365 nm dengan nilai R_f 0,6 dan 0,76 yang berwarna fluoresensi kuning kecoklatan, untuk fraksi n-heksan didapatkan satu bercak atau noda pada lampu UV 254nm dengan nilai R_f 0,78 yang berwarna hijau dan pada sinar UV 365 nm dengan nilai R_f 0,78 yang berwarna fluoresensi merah kecoklatan dan untuk fraksi etil asetat didapatkan satu bercak atau noda pada lampu UV 254nm dengan nilai R_f 0,45 yang berwarna hijau dan pada sinar UV 365 nm dengan nilai R_f 0,45 yang berwarna fluoresensi merah kecoklatan Berdasarkan penelitian [Dewi et al., \(2015\)](#) bahwa syarat nilai R_f yang baik pada kromatografi lapis tipis yaitu dengan rentang 0,2 sampai 0,8. ([Rasyid et al., 2018](#)) nilai R_f telah memenuhi ketentuan nilai R_f yang baik yaitu antara 0,2-0,8.

6. Hasil KLT Bioautografi

Pengujian terakhir yaitu KLT bioautografi yang merupakan metode identifikasi senyawa antibakteri dengan menggunakan lempeng kromatogram dengan melihat zona hambatan pada bercak yang terlokalisasi diatas medium bakteri. Metode KLT bioautografi

digunakan untuk mengetahui senyawa fraksi air daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis*W.) yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 4. Proses pengukuran zona hambat lempeng fraksi n-heksan daun bogenvil kontrol ketiga.



Gambar 5. Proses pengukuran zona hambat lempeng fraksi etil asetat daun bogenvil kontrol pertama.



Gambar 7. Proses pengukuran zona hambat lempeng fraksi etil asetat daun bogenvil kontrol ketiga.



Gambar 6. Proses pengukuran zona hambat lempeng fraksi etil asetat daun bogenvil kontrol kedua.



Gambar 9. Hasil kontrol negatif dengan lempeng kosong.



Gambar 8. Hasil kontrol positif kloramfenikol 20 µL.

Berdasarkan penelitian (Mindawarmis *et al.*, 2016) Fraksi air yang paling positif mengandung senyawa flavanoid, dimana mekanisme kerja flavanoid dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Lempeng hasil elusi dari fraksi air daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis*W.) ditempelkan diatas medium yang sudah tercampur dengan bakteri *Streptococcus mutans*

ATTC 25175 . Kemudian, disimpan dalam lemari pendingin selama 60 menit supaya bercak atau noda pada lempeng kromatogram bisa merembes dan tertinggal pada medium bakteri. Setelah, diinkubasi selama 1 X 24 jam. Kontrol positif yang digunakan yaitu obat kloramfenikol dimana, kloramfenikol dan senyawa flavanoid sama yaitu mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Mindawarmis *et al.*, 2016). Sedangkan, pada pengujian kontrol negatif menggunakan lempeng KLT kosong atau tanpa fraksi air daun bogenvil tidak memberikan zona hambat.

Tabel VI. Hasil Pengujian Aktivitas Fraksi Air Daun Bogenvil

KLT	Perlakuan	Rerata Zona hambat (mm)			Signifikan
		Fraksi air	Fraksi N heksan	Fraksi etil asetat	
Daun Bogenvil	K1	5,1	4,2	4,4	0,993 > 0,05
	K2	4,93	3,86	3,38	
	K3	5,06	4,0	4,13	
	K4		10,2		
	K5		0		

Keterangan

K1 : Lempeng KLT Fraksi daun Bogenvil pertama

K2 : Lempeng KLT Fraksi daun Bogenvil kedua

K3 : Lempeng KLT Fraksi daun Bogenvil ketiga

K4 : Kontrol positif kloramfenikol 20µL

K5 : Kontrol negatif lempeng kosong tanpa zat aktif

Hasil pengamatan zona hambat yang dilihat pada tabel 4.6 menyatakan bahwa fraksi air, n-heksan dan etil asetat daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis*W.) kromatografi lapis tipis bioautografi kontrol pertama pada pengujian antibakteri memberikan zona hambat sebesar 5,1 mm, 4,2 mm dan 4,4 mm. Kelompok kontrol kedua kromatografi lapis tipis fraksi air, n-heksan dan etil asetat daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis*W.) memberikan zona hambat sebesar 4,93 mm, 3,86 mm dan 3,86 mm. Kelompok kontrol ketiga kromatografi lapis tipis fraksi air, n-heksan dan etil asetat daun bogenvil (*Bougainvillea spectabilis*W.) memberikan zona hambat sebesar 5,06 mm, 4,0 mm dan 4,13 mm. Zona hambat yang didapat fraksi air termasuk dalam katagori sedang, fraksi n-heksan dan etil asetat termasuk dalam kategori lemah. Pada pengujian kontrol positif menggunakan larutan obat kloramfenikol 20µL memberikan zona hambat sebesar 10,2 mm. Kontrol positif termasuk dalam katagori sangat kuat. Berdasarkan penelitian (Dwijayanti & Pamungkas, 2016). bahwa semakin kecil konsentrasi ekstrak maka daya hambat pertumbuhan bakteri akan menurun.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwaFraksi air daun Bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATTC 25175 .Fraksi air daun Bogenvil (*Bougainvillea spectabilis* W.) pada konsentrasi 10% dengan metode KLT bioautografi efektifitas terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATTC 25175 .

DAFTAR PUSTAKA

- Aslah, A. P., Lolo, W. A., & Jayanto, I. (2019). *Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Klt-Bioautografi Dari Fraksi Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L .) Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado , 95115 Kata kunci : Mengkudu , Antibakteri , Staphylococcus aureus , Escherichia coli , KLT-Bioautografi* PEN. 8, 505–515.
- Ayu, M., Suratri, L., & Jovina, T. A. (2017). *Pengaruh (pH) Saliva terhadap Terjadinya Karies Gigi pada Anak Usia Prasekolah*. 241–248.
- Dewi, T. M., Herawati, D., & Hamdani, S. (2015). Analisis Kualitatif residu Antibiotika

- Tetrasiklin pada Madu. *Farmasi*, 7.
- Dewi, Z. Y., Nur, A., & Hertriani, T. (2015). Efek antibakteri dan penghambatan biofilm ekstrak sereh (*Cymbopogon nardus* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 20(2), 136. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.9120>
- Dwijayanti, S. I. P., & Pamungkas, G. S. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Biomedika*, 9(2), 11–20.
- Frastika, D., Pitopang, R., & Suwatikah, I. N. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* (L .) R . M . King Dan H . Rob) Sebagai Herbisida Alami Terhadap R . Wilczek) Dan Biji Karulei (*Mimosa Invisa* Mart . ex Colla) The Effectiveness test of Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L . *Journal of Sines and Tecnology*, 6(September 2016), 225–238.
- Gerung, A. Y., Wowor, V. N. S., & Mintjelungan, C. N. (2021). *Perilaku Pemeliharaan Kesehatan Gigi Mulut Siswa SD Dengan dan Tanpa Usaha Kesehatan Gigi Sekolah (UKGS)*. 9(30), 124–128.
- Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh metode Ekstraksi Terhadap Rendaman dan Kadar Fenolik Ekstraks Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* B). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2), 175–182. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>
- Hidayah, N., Peternakan, P. S., Pertanian, F., & Bengkulu, U. M. (2016). *Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia*. 11(2), 89–98.
- Kadir, F. N., Runtuwene, M. R. J., & Kamu, V. S. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. *Jurnal MIPA*, 10(2), 45. <https://doi.org/10.35799/jmuo.10.2.2021.33592>
- Lady Yunita Handoyo, D., & Pranoto, M. E. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54. <https://doi.org/10.35316/tinctura.v1i2.988>
- Leba, M. A. U. (2017). *Ekstraksi dan Real Kromatografi*. CV Budi Utama.
- Lovianie, M., Nurmanila, S., & Mustika. (2019). *Pengaruh Pemberian Sediaan Emulgel Kitosan-Ekstrak Daun Tapak Dara (Catharantus Roseus (L.) G. Don.) Dan Emulgel Kitosan-Ekstrak Kulit Pisang Ambon (Musa Paradisiaca L.) Untuk Penyembuhan Luka Bakar Pada*. 3(1), 40–46.
- Manguntungi, B., Kusuma, A. B., Yulianti, Asmawati, & Yunianti. (2016). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dan Sirih (*Piper betle* L) dalam Pengendalian Penyakit Vibriosis pada Udang Pendahuluan Metode Penelitian. *Biota*, 1(3), 138–144.
- Mindawarnis, nofitasari. (2016). *uji aktivitas antibakteri senyawa flavanoid daun bougenvil (Bougenvil Glabra Choicy) Terhadap Bakteri Escheichia coli*.
- Munte, Nuriana., S. & R. (2016). *BioLink Skrining Fitokimia Dan Antimikroba Ekstrak Daun Kirinyuh Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus DAN Escherichia coli Phytochemicals And Antimicrobial Screening Extracts Kirinyuh Leaf On Bacteria Staphylococcus aureus and Escherichia coli*. 2(2), 132–140.
- Ningsih, A. W., Nurrosyidah, I. H., & Hisbiyah, A. (2020). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical-Care Anwar Medika*, 2(2), 96–104. <https://doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.27>
- Nor, T. A., Indriarini, D., Marten, S., & Koamesah, J. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Journal Medis Cendana*, 15(3), 327–337.
- Nugroho, P. D., Ismail, F., & Relita, H. (2017). Potential Antibacterial Of Leaves And Flowers *Bougenvillea (Bougenvillea Glabra)*. *SANITAS: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan*, 8(1), 35–40. <https://doi.org/10.36525/sanitas.2017.6>

- Palupi, C., Nugraha, P. S. A., & Ernawaningtyas, E. (2020). Uji Mutu Sediaan Celup Daun Bunga Kertas (*Bougainvillea glabra* Choisy). *MEDFARM: Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 9(1), 22–28. <https://doi.org/10.48191/medfarm.v9i1.28>
- Putri, R., Mursiti, S., & Sumarni, W. (2017). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Temu Putih dan Temulawak terhadap *Streptococcus Mutans*. *Jurnal Mipa*, 40(1), 43–47.
- Rasyid, R., Nofriyelli, E., & Andayani, R. (2018). Validasi Metode Analisis Mangiferin Dalam Plasma In Vitro Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Universitas Andalas*, 1, 1-9.
- Sianipar, R. H., & Siahaan, M. A. (2017). Pemeriksaan Senyawa Alkaloid Pada Beberapa Tanaman Familia Solanaceae serta Identifikasinya dengan kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Farmanesia*, 4(1), 1.
- Susanti, S., Sundari, R. S., Rizkuloh, L. R., & Mardianingrum, R. (2021). Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Kadar Fenol Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.). *Biopropal Industri*, 12(1), 43. <https://doi.org/10.36974/jbi.v12i1.6482>
- Tameon, J. E. M. (2021). Hubungan Pengetahuan Anak Dengan karies Gigi Anak Kelas VA SDI Raden Paku Surabaya Tahun 2020. *Jurnal Skala Kesehatan*, 12(1), 8–19. <https://doi.org/10.31964/jsk.v12i1.277>
- Wahyuningsih, S., Auliah, N., & Salwi, S. (2020). Mouthwash Jus Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Kesehatan*, 13(2), 171. <https://doi.org/10.24252/kesehatan.v13i2.16423>