

Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

WIBOWO MANGUNWARDYO^{1*}, ENI CAHYANINGSIH², TEPY USIA²

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Indonesia, Depok, 16424.

²Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan Pengawas Obat dan Makanan,
Jalan Percetakan Negara 23, Jakarta Pusat, 10560.

Diterima, 20 Agustus 2008, Disetujui 21 Juli 2009

Abstract: *Phyllanthus niruri* L. herbs was extracted using ethanol 96%, ethylacetate and *n*-hexane. The rendements were respectively 49.25% (for ethanol extract), 4.18% (ethylacetate extract) and 0.78% (*n*-hexane extract). Identification of the ethanol extract using phytochemical assays resulted in alkaloid, flavonoid, saponin, and tannin compounds. Purification of the ethanol extract using thin layer chromatography (TLC) with *n*-hexane-ethylacetate (6:4) followed by the inhibitory activity test using bioautography TLC showed that the spot of Rf 0,46 inhibited *Staphylococcus aureus* and that of Rf 0,66 inhibited *Candida albicans*. Analysis with infra red spectrophotometer showed that the ethanol extract has hydroxyl (-OH) and carbonyl (C=O) functional groups.

Keywords: bioautography, extraction, infra red spectrophotometer, *Phyllanthus niruri* L., thin layer chromatography.

PENDAHULUAN

HERBA meniran (*Phyllanthus niruri* L.) merupakan tanaman yang mempunyai banyak khasiat dan telah digunakan sebagai obat tradisional⁽¹⁾. Khasiat tanaman tersebut diduga berasal dari kandungan berbagai senyawa kimia, di antaranya alkaloid (sekurinin), flavonoid (kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, astragalin, nirurin, niruside, rutin, leukodelfinidin, dan galokatekin), dan lignan (filantin dan hipofilantin)^(2,3,4,5,6,7).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol yang terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh. Menurut strukturnya, flavonoid merupakan turunan senyawa induk flavon. Flavonoid mengandung atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Seluruh varian flavonoid saling berkaitan karena alur biosintesis yang berasal dari jalur sikimat dan alur asetat malonat. Senyawa ini umumnya terikat sebagai glikosida, baik O-glikoksida maupun C-glikoksida⁽⁸⁾.

Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, umumnya berupa asam amino. Sementara itu, tanin termasuk senyawa polifenol alami yang mengandung gugus hidroksi fenolik dan karboksil dengan bobot molekul 300–5000 Dalton. Tanin memiliki sifat utama dapat berinteraksi dengan protein membentuk ikatan yang kuat. Ikatan tanin dan protein sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan. Senyawa tanin terdiri dari katekin, leukoantosianin, dan asam hidroksi (asam galat, asam kafeat, dan klorogenat) serta ester dari asam-asam tersebut, yaitu 3-galoilepikatekin, 3-galoilgalokatekin, dan fenil kafeat. Senyawa lainnya, steroid dan triterpenoid, berasal dari biosintesis skualena, kebanyakan berupa alkohol, aldehid atau asam karbohidrat.

Untuk memisahkan senyawa-senyawa di dalam herbal, salah satu metode yang banyak digunakan adalah kromatografi lapis tipis (KLT). Beberapa penelitian yang menggunakan metode KLT antara lain pemisahan ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dengan *n*-heksan-etil asetat (7:3) sebagai fase gerak⁽⁹⁾ serta skrining golongan senyawa ekstrak etanol 50% dan *n*-heksan dalam biji kedawung (*Parkia timoriana* Merr.), daun inggu (*Ruta angustifolia* L.), dan kulit kayu rapat (*Parameria barbata* Schum.)⁽¹⁰⁾. Contoh penelitian lainnya adalah skrining fitokimia dan pemisahan

* Penulis korespondensi, Hp. 081808857150
e-mail: w_mangunwardoyo@hotmail.com

ekstrak metanol 80% daun pecut kuda menggunakan KLT dengan fase gerak kloroform-metanol-etil asetat (9:3:5)⁽¹¹⁾ dan pemisahan ekstrak air suling dan etanol 50% biji picung segar yang mempunyai bioktivitas antimikroba, menggunakan fase gerak etanol-etil asetat (9:1), etil asetat-*n*-heksan (8:2), *n*-heksan-etil asetat (9:1)⁽¹²⁾.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% meniran yang mempunyai aktivitas antimikroba menggunakan metode kromatografi lapis tipis, bioautografi KLT, dan spektrofotometri infra merah.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Penggiling (Heiko, TI-300), *vacuum evaporator* (Bunch), timbangan analitik (Shimadzu), *laminar air flow cabinet* (Labconco), inkubator (Memmert), autoklaf (Hirayama), *hot plate* (Thermoline), spektrofotometer IR (Shimadzu), *vortex* (Scientific), *shaker water-bath* (Taiyo), mikropipet 1–10 µl dan pin silinder, serta bejana kromatografi lapis tipis (KLT). Bahan tumbuhan yang terdiri dari sampel berupa batang, daun, bunga, dan buah meniran berumur 2-3 bulan diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat Cimanggu, Bogor. Bahan-bahan kimia dan media yang digunakan adalah etanol, etil asetat, *n*-heksan (Merck), pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, asam klorida (HCl), feri klorida (FeCl₃), gelatin 10%, lempeng KLT, aluminium gel, lempeng silika GF₂₅₄ (Merck), *Potato Dextrose Agar* (PDA, Difco), *Tryptic Soy Agar* (TSA, Difco). Mikroba uji yang digunakan terdiri dari *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dan *Candida albicans* ATCC 10231 NCTC 3179 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional (PPOMN) Badan Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

METODE. **Ekstraksi.** Bagian batang, daun, dan bunga herba meniran dibersihkan lalu diangin-anginkan sampai kering, dengan kadar air 5%. Herba meniran yang telah kering dipotong-potong dan digiling sampai terbentuk serbuk. Sebanyak 300 g serbuk dalam labu ukur 2000 ml dimaserasi dalam etanol 96% sampai seluruh serbuk terendam (1500 ml). Maserasi dilakukan selama 6 jam sambil digoyang menggunakan *shaker* dengan kecepatan 40 rpm. Rendaman serbuk meniran direfluks selama 3 jam dan disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 42. Ampas penyaringan direfluks kembali dengan etanol 96%, diulang sebanyak 2 kali.

Etanol yang terdapat pada filtrat dihilangkan dengan cara diuapkan menggunakan evaporator vakum (*vacuum evaporator*) pada suhu 40°C, sehingga diperoleh ekstrak kental (*crude extract*) etanol 96%. Ampas etanol diekstrak kembali menggunakan etil asetat, dengan cara direfluks sebanyak 2 kali dan disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 42. Filtrat yang dihasilkan dihilangkan pelarutnya melalui penguapan menggunakan evaporator vakum suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental etil asetat. Ampas etil asetat diekstraksi kembali menggunakan *n*-heksan dengan cara maserasi selama 24 jam, kemudian disaring dan filtrat yang dihasilkan dihilangkan pelarutnya melalui penguapan menggunakan evaporator vakum suhu 40°C, sehingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksan. Rendemen yang diperoleh ditimbang dan dicatat^(8, 13). Ekstrak etanol 96% selanjutnya diuji kadar air, kadar abu, dan kadar abu tidak larut asam^(14, 15).

Identifikasi kimia ekstrak etanol^(6,8,16,17,18,19).

Identifikasi alkaloid. Sebanyak 2 g ekstrak dilembabkan dengan 5 ml amonia 25% dan dikocok, lalu ditambahkan 20 ml kloroform, dikocok kembali dan disaring. Filtrat diteteskan pada kertas saring dan disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Adanya senyawa alkaloid dideteksi bila terbentuk warna merah jingga pada kertas saring. Sebagian filtrat diasamkan dengan 5 ml asam klorida 2 N. Filtrat yang didapat dikelompokkan menjadi 3 bagian, dan masing-masing bagian ditetesi dengan 2 tetes Bouchardat LP, Mayer LP, dan Dragendorff LP. Hasil dinyatakan positif bila setelah ditetesi Bouchardat LP terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, setelah ditetesi Mayer LP terbentuk endapan berwarna putih yang larut dalam metanol, dan setelah ditetesi Dragendorff LP terbentuk endapan berwarna merah bata.

Identifikasi glikosida. Pada identifikasi ini digunakan pereaksi Keller Kiliani. Sebanyak 1 g ekstrak dihilangkan lemaknya dengan pencucian *n*-heksan beberapa kali sampai larutan heksan tidak berwarna. Residu dipanaskan untuk menghilangkan *n*-heksan dan setelah didinginkan, ditambahkan besi (III) klorida 0,3 M, kemudian ditambahkan pula dengan hati-hati asam sulfat pekat. Campuran dibiarkan beberapa menit sehingga terbentuk warna merah kecoklatan dan dapat berubah menjadi warna biru atau lembayung. Perubahan tersebut menunjukkan adanya glikosida.

Identifikasi steroid/triterpenoid. Sebanyak 5 ml ekstrak ditambah dengan pereaksi Liebermann-Bouchardat yang terdiri dari 5 ml asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat 5 tetes. Terbentuknya warna merah berubah menjadi hijau, ungu, dan terakhir biru,

menunjukkan hasil positif steroid dan triterpenoid.

Identifikasi antrakuinon. Sebanyak 1 g ekstrak ditambah 10 ml KOH 0,5 M dan 1 ml hidrogen peroksida 5% dipanaskan selama 10 menit, kemudian disaring, diasamkan dengan asam asetat, dan diekstraksi dengan 5 ml benzena. Lapisan benzena dipisahkan dan ditambahkan ammonia. Hasil positif ditunjukkan jika pada lapisan ammonia terbentuk warna merah dan lapisan benzena tidak berwarna.

Identifikasi flavonoid. Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dalam 50 ml air, dipanaskan dan disaring. Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan 500 mg serbuk seng serta 2 ml asam klorida 2 N, didiamkan 1 menit, ditambahkan 10 ml asam klorida pekat. Terjadinya warna merah dalam 2–5 menit menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Sebanyak 5 ml filtrat dalam tabung yang berbeda ditambahkan 100 mg serbuk magnesium dan 5 ml asam klorida pekat. Terjadinya warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid.

Identifikasi saponin. Sebanyak 10 ml filtrat dari uji flavonoid dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dikocok selama 10 detik. Hasil dikatakan positif bila terbentuk busa stabil selama 10 menit, setinggi 1–10 cm dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N.

Identifikasi tanin. Ekstrak sebanyak 1 g dilarutkan dalam 20 ml air panas dan ditambah 1 ml natrium klorida 10%, kemudian disaring, dan filtratnya dibagi ke dalam dua tabung. Tabung pertama ditetesi 3 tetes gelatin. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan. Tabung kedua ditetesi 3 tetes larutan besi (III) klorida; perubahan warna menjadi biru hitam atau biru hijau menunjukkan adanya tanin.

Identifikasi kandungan kimia dengan kromatografi lapis tipis (KLT)^(5,6,7,17). Ekstrak etanol 96% diidentifikasi dengan metode KLT menggunakan silika gel GF₂₅₄ (10 x 20 dan 20 x 20 cm, ketebalan 0,25 mm) dan aluminium gel sebagai fase diam. Sebagai pelarut pengembang digunakan *n*-heksan-etil asetat (6:4) yang merupakan hasil uji pendahuluan. Penampakan noda dilakukan menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang (λ) 254 nm. Pada jarak rambat 15 cm dan 6,5 cm, dilakukan pengukuran Rf dari setiap noda yang terbentuk. Jarak rambat ditentukan 15 cm dan 6,5 cm dari garis awal penotolan. Larutan pengembang dimasukkan ke dalam bejana kromatografi, dan untuk mengetahui bejana kromatografi telah jenuh oleh pelarut pengembang, kertas saring dimasukkan ke dalam bejana. Masing-masing larutan ekstrak

ditotolkan 10 μ l pada lempeng silika gel. Lempeng segera dimasukkan ke dalam bejana dan ditutup kembali. Setelah pengembang mencapai garis batas atas, lempeng dikeluarkan dan segera dikeringkan. Pengamatan noda setiap ekstrak dilakukan di bawah lampu UV 254 nm, ditandai dengan ada atau tidaknya fluoresensi, dan pola kromatogram digambar. Setiap bercak dikerok untuk dilakukan pengujian aktivitas terhadap mikroba uji dan identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96%. Pengujian aktivitas mikroba dari hasil KLT lempeng GF₂₅₄ dilakukan menggunakan metode difusi agar, sementara dari lempeng aluminium gel menggunakan metode bioautografi.

Pengujian antibakteri dengan metode difusi agar. Metode difusi pada lempeng agar digunakan untuk melihat adanya aktivitas antibakteri dari hasil kerokan bercak KLT. Sebanyak 1 ml inokulum *Staphylococcus aureus* (10⁸ cfu/ml) masing-masing diinokulasikan ke dalam 100 ml media TSA yang telah cair dengan suhu kira-kira 45°C, dihomogenkan, kemudian dituang sebanyak 20 ml ke dalam cawan Petri steril. Setelah media mengeras, pin silinder dengan diameter 8 mm diletakkan dengan menggunakan pinset steril di atas media agar. Hasil kerokan KLT ekstrak etanol 96% herba meniran dilarutkan dalam air suling sebanyak 2 ml, sebanyak 0,1 ml diisikan ke dalam pin silinder, kemudian diinkubasi pada suhu 35–37°C selama 24 jam. Pada setiap cawan Petri yang digunakan untuk pengujian diletakkan empat pin silinder. Daerah hambatan diukur berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekitar pin silinder. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali⁽¹⁴⁾.

Pengujian antihamir dengan metode difusi agar. Metode difusi pada lempeng agar digunakan untuk melihat adanya aktivitas antihamir dari hasil kerokan bercak KLT ekstrak etanol 96% herba meniran. Sebanyak 1 ml inokulum *Candida albicans* (10⁸ cfu/ml) diinokulasikan ke dalam 100 ml media PDA yang telah cair dengan suhu kira-kira 45°C, dihomogenkan, kemudian dituang sebanyak 20 ml ke dalam cawan Petri steril. Setelah media mengeras, pin silinder dengan diameter 8 mm diletakkan dengan menggunakan pinset steril di atas media agar. Hasil kerokan KLT ekstrak etanol 96% herba meniran dilarutkan dalam air suling 2 ml dan sebanyak 0,1 ml diisikan ke dalam pin silinder, kemudian diinkubasi pada suhu 22°C selama 24 jam. Pada setiap cawan Petri yang digunakan untuk pengujian diletakkan empat pin silinder. Daerah hambatan diukur berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekitar pin silinder. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali⁽¹⁴⁾.

Uji bioautografi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Candida albicans* ATCC 10231 NCTC 3179. Pengujian ini dilakukan untuk menentukan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% yang mempunyai aktivitas penghambatan pertumbuhan mikroba. Kromatogram lapis tipis diuji langsung pada media berisi mikroba uji. Bagian yang bening (terjadi penghambatan pertumbuhan mikroba) pada media diidentifikasi dengan cara membandingkannya dengan kromatogram yang telah diukur nilai Rf. Sebanyak 1 ml (10^8 cfu/ml) inokulum *Staphylococcus aureus* masing-masing diinokulasikan ke dalam 100 ml media TSA dan *Candida albicans* ke media PDA steril yang telah cair dengan suhu kira-kira 45°C, dihomogenkan, kemudian dituang sebanyak 20 ml ke dalam cawan Petri steril. Setelah media mengeras, hasil KLT pada aluminium gel diletakkan di atas agar menggunakan pinset steril. Lempeng KLT dibiarkan di dalam cawan Petri berisi biakan mikroba selama 1–2 jam agar bercak hasil KLT berdifusi dengan baik⁽²¹⁾. Lempeng KLT dikeluarkan dan cawan selanjutnya diinkubasi pada suhu 35–37°C selama 24 jam untuk bakteri dan 22–25°C selama 24 jam untuk fungi. Daerah hambatan diukur berdasarkan zona bening yang terbentuk di setiap bercak dan diukur pada Rf berapa zona bening terbentuk. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali^(9, 20, 21).

Identifikasi hasil KLT menggunakan spektrofotometer infra merah. Kerokan KLT untuk setiap nilai Rf dimasukkan ke dalam pipet tetes yang disumbat kapas di bagian ujung, selanjutnya diberi larutan berupa campuran *n*-heksan-etil asetat (6:4). Setiap tetesan yang jatuh dari pipet tetes ditampung dalam kaca arloji. Kaca arloji yang berisi

larutan dikeringkan di atas tangas air sampai larutan mengering, kemudian ditimbang. Sebanyak 1 mg hasil kerokan yang telah dikeringkan dibuat lempeng dengan menambahkan KBr sebanyak 100 mg. Lempeng tersebut dibaca dengan spektrofotometer infra merah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi 300 g herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.), menggunakan etanol 96% menghasilkan 141,75 g (49,25%) ekstrak kasar, ekstraksi dengan etil asetat menghasilkan 12,55 g (4,18%) ekstrak kasar, dan ekstraksi dengan *n*-heksan menghasilkan 2,35 g (0,78%) ekstrak kasar; semua ekstrak kasar tersebut berwarna hijau. Ekstrak etanol 96% herba meniran yang digunakan untuk pengujian telah memenuhi syarat kadar air, kadar abu, dan kadar abu tidak larut asam sesuai dengan monografi ekstrak tumbuhan obat Indonesia.

Pada pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), dan khamir (*Candida albicans* ATCC 10231 NCTC 3179), hanya ekstrak etanol 96% yang menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* sehingga pengujian identifikasi golongan senyawa hanya terhadap ekstrak etanol 96%. Hasil pengujian identifikasi golongan senyawa dalam ekstrak etanol 96% menunjukkan, ekstrak etanol 96% mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Tabel 1). Hasil pengujian ini sesuai dengan hasil dari peneliti-peneliti lain yang melaporkan bahwa senyawa-senyawa kimia yang terkandung

Tabel 1. Hasil identifikasi kimia ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.).

No.	Golongan senyawa	Hasil	Karakteristik
1.	Alkaloid	+	Bouchardat: endapan coklat, Mayer: endapan putih, Dragendroff: endapan merah bata
2.	Flavonoid	+	Mg+HCl pekat (kuning jingga) Zn+HCl pekat (merah)
3.	Saponin	+	Terbentuk busa
4.	Tanin	+	Gelatin 10% terbentuk endapan FeCl ₃ terjadi warna biru hitam
5.	Antrakuinon	-	
6.	Steroid	-	
7.	Glikosida	-	

dalam ekstrak etanol 96% herba meniran adalah senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, glikoksida, tanin, dan lignan^(3, 7).

Senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang terkandung di dalam ekstrak etanol meniran memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Aktivitas antimikroba dapat diketahui dari kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri Gram positif, *S. aureus* dan khamir *C. albicans*. Penghambatan pertumbuhan mikroba terjadi karena penghambatan sintesis dinding sel, pengubahan permeabilitas membran sel atau transpor aktif melalui membran sel, penghambatan sintesis protein, dan penghambatan sintesis asam nukleat⁽²²⁾.

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan menggunakan lempeng silika gel GF₂₅₄ dan lempeng

aluminium gel sebagai fase diam. Pada pengujian pendahuluan dengan etanol-kloroform (9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8 dan 1:9) sebagai larutan pengembang tidak diperoleh pemisahan yang baik (*tailing*). Tetapi, KLT menggunakan larutan pengembang campuran *n*-heksan-etil asetat: (9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8 dan 1:9) memberikan pemisahan senyawa yang baik pada campuran *n*-heksan-etil asetat (6:4).

Pada analisis KLT ekstrak etanol meniran lempeng GF₂₅₄ diperoleh 11 bercak dan dari aluminium GF₂₅₄ diperoleh 7 bercak dengan nilai Rf disajikan pada Tabel 2. Perbedaan bercak diduga karena kecilnya konsentrasi pada lempeng aluminium sehingga bercak terlihat samar-samar, namun peningkatan konsentrasi ekstrak akan menunjukkan hasil

Tabel 2. Hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak etanol 96% herba meniran dengan pengembang *n*-heksan-etil asetat (6:4).

No.	Silika gel GF ₂₅₄		Aluminium gel	
	Rf	Warna	Rf	Warna
0.		Coklat		Coklat
1.	0,15	Hijau muda	0,31	Hijau muda
2.	0,26	Hijau	0,40	Kuning
3.	0,32	Hijau muda	0,46	Hijau muda
4.	0,35	Kuning	0,60	Kuning
5.	0,44	Hijau muda	0,66	Hijau kuning
6.	0,65	Hijau kuning	0,74	Hijau
7.	0,71	Kuning	0,90	Kuning
8.	0,76	Hijau kuning		
9.	0,79	Hijau		
10.	0,82	Hijau		
11.	0,88	Kuning		

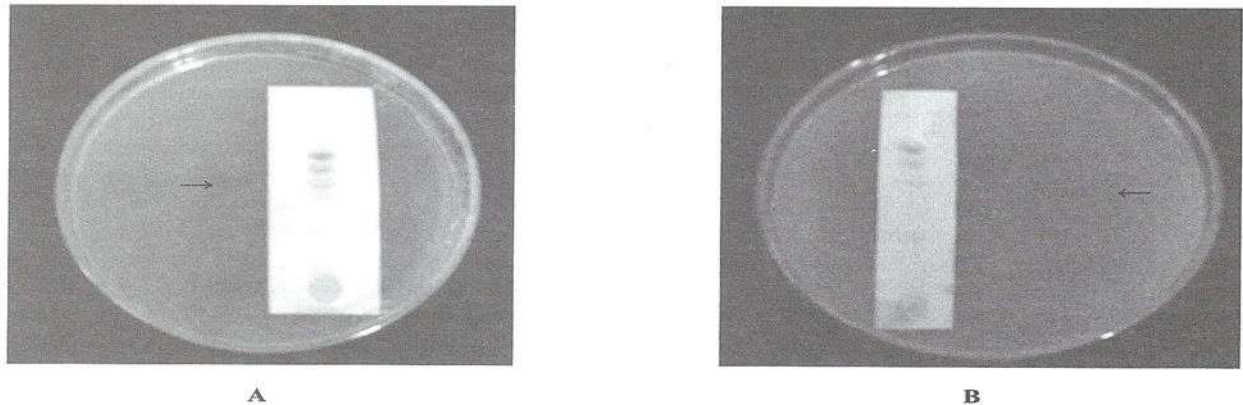
kromatogram dengan pemisahan yang tidak baik (*tailing*). Karena karutan pengembang *n*-heksan-etil asetat adalah larutan yang bersifat semipolar, bercak yang terlihat pada kromatogram KLT merupakan senyawa semipolar sampai nonpolar.

Uji aktivitas antimikroba dari fraksi hasil KLT ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan metode difusi agar menggunakan pin silinder terhadap mikroba uji bakteri Gram positif *S. aureus*, dan khamir *C. albicans* tidak memberikan daerah hambatan. Tidak adanya penghambatan pertumbuhan mikroba diduga karena konsentrasi fraksi hasil kromatografi yang didapat terlalu kecil atau karena adanya efek sinergisme antarsenyawa. Kecilnya konsentrasi hasil kerokan KLT menyebabkan

senyawa yang terkandung di dalam ekstrak tidak dapat merusak dinding sel bakteri *S. aureus* dan khamir *C. albicans*.

Pengujian bioaktivitas hasil KLT ekstrak meniran secara bioautografi menghasilkan penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* pada nilai Rf 0,46 dan penghambatan terhadap *C. albicans* pada nilai Rf 0,66. Penghambatan terhadap mikroba yang diperlihatkan dengan adanya zona bening yang terbentuk disajikan pada Gambar 1.

Hasil KLT ekstrak *Phyllanthus niruri* L. (meniran) yang dapat menghambat bakteri *S. aureus* adalah pada nilai Rf 0,46 dan yang menghambat *C. albicans* pada nilai Rf 0,66. Pengujian kerokan hasil KLT dengan pereaksi alkaloid, flavonoid, dan tanin



Gambar 1. Uji Bioautografi ekstrak etanol herba *Phyllanthus niruri* L. terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (A), dan terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 (B). → = Daerah hambatan

Tabel 3. Angka gelombang dari ekstrak etanol 96% herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan nilai Rf 0,46 dan Rf 0,66.

Ikatan	Pustaka	Angka gelombang	
		Rf 0,46	Rf 0,66
C-C, C-O, C-N	1300-800 cm^{-1}		
C=C, C=O, C=N, N=O	1900-1500 cm^{-1}	1706,93,1620,21 cm^{-1}	1730,15,1612,49 cm^{-1}
C=C, C=N	2300-2000 cm^{-1}		
C-H, O-H, N-H	3800-2700 cm^{-1}	3500, 2916,37 cm^{-1}	2956,87 cm^{-1}

menunjukkan bahwa bercak dengan nilai Rf 0,46 dan Rf 0,66 diduga senyawa golongan alkaloid dan tanin karena memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan jingga (pereaksi Dragendorff) dan endapan putih (pereaksi Mayer), serta terbentuk warna hitam dengan pereaksi FeCl_3 dan endapan pada gelatin 10%). Senyawa golongan alkaloid dan tanin yang terdapat dalam ekstrak meniran dan memberikan aktivitas penghambatan terhadap mikroba kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer infra merah. Hasil analisis spektrofotometri IR terhadap padatan yang diperoleh dari kerokan bercak ekstrak etanol 96% herba meniran dengan nilai Rf 0,46 dan nilai Rf 0,66 disajikan pada Tabel 3.

Dari data pada Tabel 3 tersebut dapat dinyatakan bahwa fraksi dengan nilai Rf 0,46 mengandung senyawa yang mempunyai gugus fungsional hidroksil ($-\text{OH}$) berdasarkan angka gelombang 3500 cm^{-1} , gugus karboksil ($\text{C}=\text{O}$) berdasarkan angka gelombang 1706,93 cm^{-1} . Sementara itu, fraksi dengan nilai Rf 0,66 mengandung senyawa yang mempunyai gugus fungsional karboksil ($\text{C}=\text{O}$) berdasarkan angka gelombang 1730,15 cm^{-1} (23).

SIMPULAN

Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Dari hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol 96% menggunakan larutan pengembang *n*-heksan-etil asetat (6:4) dihasilkan 11 bercak. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol 96% menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* pada nilai Rf 0,46 dan terhadap *Candida albicans* pada Rf 0,66. Senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba tersebut adalah golongan alkaloid dan tanin. Ekstrak etanol 96% herba meniran dengan nilai Rf 0,46 memiliki gugus fungsional hidroksil ($-\text{OH}$) dan karbonil ($\text{C}=\text{O}$); sementara Rf 0,66 memiliki gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$).

DAFTAR PUSTAKA

- Heyne K. Tumbuhan berguna Indonesia II. Terjemahan dari De nuttige planten van Indonesie, oleh Badan Litbang Kehutanan. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya; 1987. hal. 2521.

2. Venkateswaran PS, Millman I, Blumberg BS. Effects of an extract from *Phyllanthus niruri* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: *in vitro* and *in vivo* studies. *Proceeding National Academic Science, USA*. 1987.(84): 274-78.
3. Naik AD, Juvekar AD. Effect of alkaloid extract of *Phyllanthus niruri* on HIV replication. *Indian Journal Medicinal Science*. 2003.57:387-93.
4. Kardinan A, Kusuma FR. Meniran penambah daya tahan tubuh alami. Jakarta: Agromedia Pustaka; 2004. hal. 61.
5. Badan POM. Meniran (*Phyllanthus niruri* L). Jakarta: Badan POM; 2006. hal. 13.
6. Asean Countries National Agency of Drug and Food Control. Standard of Asean herbal medicines. Vol. II. Jakarta: Asean countries, National Agency of Drug and Food Control; 2004. p. 202.
7. Elfahmi, Batterman S, Koulman A, Hackl T, Bos R, Kayser O, Woerdenbag HJ, Quax WJ. Lignans from cell suspension culture of *Phyllanthus niruri*, an Indonesian medicinal plant. *Journal of Natural Products*. 2006.69:55-8.
8. Harborne JB. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. 3rd ed. London: Chapman & Hall; 1998. p. 302.
9. Hertiani T, Palupi SI, Sanliferianti, Nurwindasari DH. *In vitro* test on antimicrobial potency against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* and *Candida albicans* of some herbs traditionally used cure infection diseases. *Pharmacology*. 2003.4(2): 89-95.
10. Priyono RE. Skrining golongan senyawa kimia dan uji antibakteri ekstrak etanol 50% dan *n*-heksan biji kedawung (*Parkia timoriana* Merr.), daun inggu (*Ruta angustifolia* L.), dan kulit kayu rapat (*Parameria barbata* Schum.) terhadap bakteri Gram positif [tesis]. Depok: Biologi FMIPA UI; 2004. hal. 68.
11. Indrayani L, Soetjpto H, Sihasale L. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Berkala Penelitian Hayati*. 2006.12: 57-61.
12. Ismaini L. Studi aktivitas dan analisis kimia senyawa antibakteri dari ekstrak biji picung (*Pangium edule* Reinw.) [tesis]. Depok: Biologi FMIPA UI; 2007. hal. 87.
13. Usia T, Banskota AH, Tezuka Y, Midorikawa K, Matsushige K, Kadota S. Chemical constituents of Chinese propolis and their antiproliferative activities. *Journal Natural Products*. 2002. 65(5): 673-76.
14. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Farmakope Indonesia IV. Jakarta: Departemen Kesehatan R.I; 1995. hal. 1290.
15. Badan POM. Monografi ekstrak tumbuhan obat Indonesia. Vol 1. Jakarta: Badan POM; 2004. p. 67-70.
16. Farnsworth. Biological and phytochemical screening of plants. *Journal Pharmaceutical Science*. 1966. 55(3): 243-269.
17. Stahl E. Analisis obat secara kromatografi dan mikroskopi. Terjemahan dari Drug analysis by chromatography and microscopy: a practical supplement to pharmacopoeias, oleh Padmawinata, Sudiro KI. Bandung: ITB; 1985. hal. 267.
18. Anonim. Materi Medika Indonesia III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1977. hal. 523-28.
19. Mdlolo CM, Shandu JS, Oyedeji OA. Phytochemical constituents and antimicrobial studies of two South Africa *Phyllanthus* species. *African Journal of Biotechnology*. 2008.7(5): 639-43.
20. Sylvia S, Soetarno, Yulinah E. Telaah fitokimia ekstrak etanol buah cabe dan uji aktivitasnya sebagai antimikroba. Bandung: Sekolah Farmasi ITB; 1996.
21. Sudirman LI. Detection of antimicrobial compounds isolated from several tropical *Lentinus* by bioautographic method. *Hayati Journal of Biosciences*. 2005.12(2): 16-22.
22. Jawetz E. Prinsip kerja obat antimikroba. 3rd ed. Dalam Katzung B.G. Farmakologi dasar dan klinik. Jakarta: Kedokteran EGC; 1992. hal. 607-12.
23. Silverstein RM, Bassler GC, Morrill TC. Spectrometric identification of organic compounds. 4th ed. John Wiley & Sons, New York; 1963. 95-105.