

## Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antimikrob Ekstrak Etil Asetat *Dumortiera hirsuta*

### *Identification of Secondary Metabolites and Antimicrobial Activity of Dumortiera hirsuta Ethyl Acetate Extract*

Junairiah\*, Muhimmatus Sa'diyah, Salamun

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga  
Kampus C Unair, Jln. Mulyorejo Surabaya 60115

#### ABSTRAK

Salah satu keanekaragaman flora di Indonesia adalah *Dumortiera hirsuta*. Tumbuhan ini berpotensi sebagai bahan antibakteri dan antifungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menguji aktivitas antimikrob metabolit sekunder ekstrak etil asetat *D. hirsuta*. Metabolit sekunder diidentifikasi dengan skrining fitokimia. Aktivitas antimikrob dilakukan dengan uji difusi dan uji dilusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Candida albicans* ATCC 10231. Penelitian terdiri atas 24 perlakuan dan masing-masing terdiri atas tiga ulangan. Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat, minimal inhibitory concentration (MIC), minimal bakterisidal/fungisidal concentration (MBC/MFC). Data dianalisis secara deskriptif. Berdasarkan hasil identifikasi, diketahui bahwa ekstrak etil asetat *D. hirsuta* mengandung flavonoid, alkaloid, steroid dan dapat menghambat mikrob patogen..

**Kata kunci:** *Dumortiera hirsuta*, metabolit sekunder, antimikrob

#### ABSTRACT

One of the diversity of flora in Indonesia is *Dumortiera hirsuta*. This plant has the potential as an antibacterial and antifungal. This study aimed to identify and test the antimicrobial activity of secondary metabolites ethyl acetate extract of *D. hirsuta*. Secondary metabolites were identified by phytochemical screening. Antimicrobial activity performed by diffusion test and dilution test against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25 922 and *Candida albicans* ATCC 10231. This research consisted of 24 treatments and each consists of three replications. The obtained data were the diameter of inhibition zone, minimal inhibitory concentration (MIC), minimal bactericidal/fungicidal concentration (MBC/MFC). Data were analyzed descriptively. The identification result showed that the ethylacetate extract of *D. hirsuta* contained flavonoids, alkaloids, steroid, and can inhibit pathogen microbes.

**Key words:** *Dumortiera hirsuta*, secondary metabolites, antimicrobial

#### PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi permasalahan utama kesehatan di Indonesia (Kuswandi *et al.*, 2001). Rendahnya tingkat ekonomi, sosial, pendidikan, kesehatan, lingkungan serta kondisi nutrisi yang buruk memicu terjangkitnya berbagai penyakit infeksi (Dorlan, 2002). Penyakit infeksi disebabkan

oleh bakteri atau mikroorganisme patogen yang terdapat di jaringan tubuh (Jawetz *et al.*, 2005).

Masyarakat menggunakan tumbuhan sebagai alternatif untuk pengobatan penyakit. Dibandingkan dengan bahan kimia sintetik, bahan alam memiliki beberapa kelebihan yaitu efek samping rendah, antar komponen dalam suatu ramuan mempunyai

\* Alamat Korespondensi:  
surel: alip.jun1@gmail.com

efek saling mendukung (Katno & Pramono, 2010). Salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk mengatasi penyakit infeksi adalah tumbuhan lumut. Penelitian mengenai berbagai jenis tumbuhan lumut menunjukkan bahwa kelompok tumbuhan ini berpotensi sebagai bahan antimikroba. Ekstrak etanol dan etil asetat *Marchantia paleacea* menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus typhimurium* (Fadhilla, 2010). Ekstrak air *D. hirsuta* tujuh fungi fitopatogen, yaitu *Alternaria alternate*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, dan *Penicillium chrysogenum* (Alam *et al.*, 2011). Ekstrak kloroform, metanol, dan air *Dumortiera hirsuta* dapat menghambat *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans* (Junairiah *et al.*, 2010). Ekstrak air dan etanol sebelas spesies Bryophyta dan sembilan spesies Marchantiophyta hasil koleksi dari Latvia dapat menghambat *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Bacillus cereus* (Nikolajeva *et al.*, 2012). Selama ini belum diketahui metabolit sekunder dan aktivitas antimikrob ekstrak etil asetat *D. hirsuta*. Pelarut etil asetat yang bersifat semipolar dapat mengikat flavonoid, alkaloid, dan steroid (Harbourne, 1987; Robinson, 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder dan menguji aktivitas antimikrob ekstrak etil asetat *D. hirsuta* terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, dan *C. albicans* ATCC 10231. Pengujian pada ekstrak etil asetat dengan berbagai konsentrasi diharapkan akan menunjukkan variasi diameter penghambatan mikrob uji sehingga diketahui nilai MIC dan MBC/MFC.

#### METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah lumut hati *D. hirsuta* yang diperoleh di Taman Hutan Raya R. Suryo, Batu. Mikrob patogen yang dipakai yaitu *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, dan *C. albicans* ATCC 10231. Ketiga mikrob tersebut diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, FST, Universitas Airlangga. Alat yang digunakan adalah peralatan gelas, Laminar Air Flow (LAF), neraca analitik, inkubator, spektrofotometer, vortex.

Pembuatan ekstrak dan identifikasi golongan senyawa. Lumut *D. hirsuta* dibersihkan dengan air dan dikeringanginkan di atas kertas koran pada suhu ruang. Lumut hati yang sudah kering ditimbang sebanyak 20 gram dan dipotong hingga halus dan dimaserasi dengan etil asetat selama tiga hari secara berturut-turut dan diulang sebanyak tiga kali. Selanjutnya ekstrak dipekatkan untuk mendapatkan ekstrak dalam bentuk konsentrat. Analisis golongan senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Willstater-Sianidin, alkaloid dengan pereaksi

Dragendorff dan Wagner, steroid dan terpenoid dengan pereaksi Liebermann Buchard.

Pembuatan stok mikrob uji. Suspensi mikrob uji dibuat dengan memindahkan beberapa ose bakteri dari agar miring ke dalam 20 ml air fisiologis, campuran tersebut dihomogenkan, selanjutnya diambil beberapa ml untuk diukur OD 0,1 pada panjang gelombang 600 nm untuk fungi dan 625 nm untuk bakteri dengan menggunakan spektrofotometer.

Uji difusi. Media yang digunakan untuk uji difusi adalah Mueller Hinton agar (MHA). Pada cawan petri dimasukkan 1 ml suspensi mikrob, lalu ditambahkan 15 ml media MHA, dihomogenkan dan dibiarkan padat. Pada permukaan media diletakkan tiga buah kertas cakram (diameter 6 mm) yang sudah dtetesi dengan 25  $\mu$ l ekstrak masing-masing dengan konsentrasi 0, 2500, 5000, 10.000, 20.000, 40.000, 60.000, dan 80.000 ppm. Diameter penghambatan diukur dengan jangka sorong.

Uji dilusi. Dalam tabung reaksi dimasukkan satu mililiter suspensi mikrob uji dalam medium Mueller Hinton Broth (MHB) dan satu mililiter ekstrak. Selanjutnya ke dalam campuran petri dimasukkan 0,1 ml kultur mikrob dan 15 ml media MHA untuk bakteri diinkubasi selama 24 jam dan untuk fungi 48 jam. Pada saat mikrob tumbuh, berarti konsentrasi tersebut menunjukkan nilai MIC. Data dianalisis secara deskriptif.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Tumbuhan memiliki dua macam senyawa metabolit, yaitu primer dan sekunder. Senyawa metabolit primer merupakan hasil dari keseluruhan proses sintesis dan perombakan zat yang dilakukan oleh organisme untuk kelangsungan hidup tumbuhan. Senyawa yang termasuk senyawa metabolit primer yaitu polisakarida, protein, lemak, asam nukleat, dan sebagainya. Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang bukan merupakan senyawa penting bagi suatu organisme. Senyawa yang termasuk metabolit sekunder adalah terpene, alkaloid, senyawa fenolik, dan lain-lain (Kristanti *et al.*, 2008).

Menurut Supriyono (2007) umumnya setiap makhluk hidup mampu menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder. Metabolit sekunder dihasilkan pada saat makhluk hidup terpapar oleh organisme lain atau sebagai upaya pertahanan terhadap lingkungannya. Contohnya digunakan sebagai polinator, molekul signal dan pencegahan terhadap hama dan penyakit.

Dari 20 gram serbuk *D. hirsuta* yang diekstraksi dengan 900 ml etil asetat diperoleh ekstrak sebanyak 1 gram. Skrining fitokimia dilakukan untuk menentukan metabolit sekunder ekstrak etil asetat *D. hirsuta*. Hasil uji skrining fitokimia terdapat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Identifikasi golongan senyawa ekstrak etil asetat *D. hirsuta*

Golongan senyawa	Pereaksi				
	Willstater-ianidin	Dragendorff	Meyer	Wagner	Lieberman Buchard
Flavonoid	+				
Alkaloid		+	+	+	
Steroid					+
Terpenoid					-

Ekstrak etil asetat *D. hirsuta* mengandung flavonoid, alkaloid, dan steroid. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol di alam. Pada tumbuhan, umumnya flavonoid dijumpai sebagai campuran, sedikit sekali dalam bentuk flavonoid tunggal (Harborne, 1987). Asakawa *et al.* (2000) melaporkan bahwa lumut hati *Marchantia polymorpha* mengandung senyawa fenolik. Umumnya flavonoid termasuk asam fenolik merupakan kelompok utama fenol yang terdapat pada lumut daun (Russel *et al.*, 2010). Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder yang mengandung nitrogen yang secara farmakologis berasal dari tumbuhan (Sarker dan Nahar, 2009). Metabolit ini merupakan senyawa pahit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Robinson, 1995). Steroid sebagian bersifat nonpolar hingga semi polar sehingga dalam proses isolasi dapat menggunakan pelarut yang bersifat nonpolar dan semi polar (Robinson, 1995). Lumut hati *Marchantia* terutama mengandung flavonoid, triterpenoid, dan steroid (Zhu *et al.*, 2003 ; Xiao *et al.*, 2005; Cao *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2005).

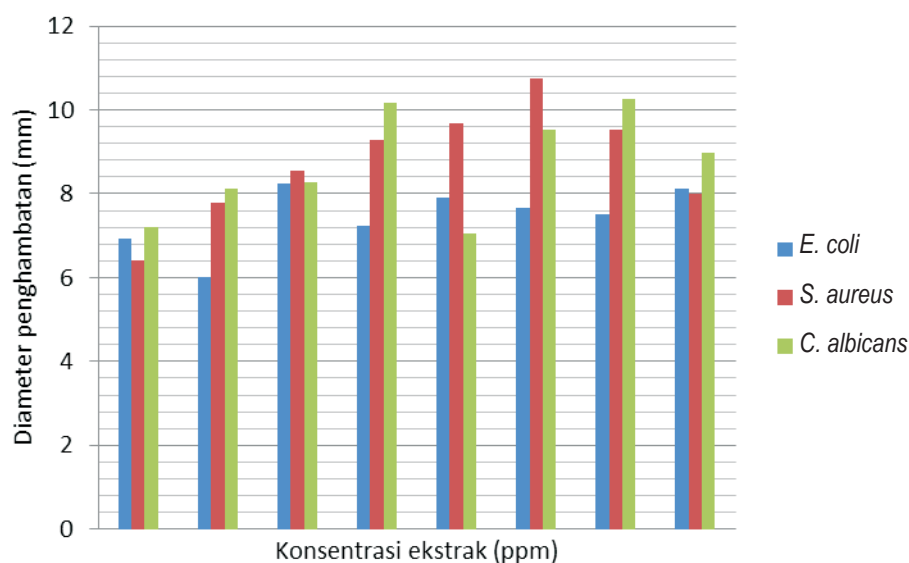
Hasil uji difusi ekstrak etil asetat *D. hirsuta* pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan mikroba uji terdapat pada gambar 1. Diameter penghambatan tertinggi terhadap *E. coli* pada konsentrasi 5000 ppm,

*S. aureus* pada 40.000 ppm, dan *C. albicans* pada konsentrasi 60.000 ppm. Secara umum semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar pula diameter penghambatan yang dihasilkan. Menurut Pelczar & Chan (1988), sel-sel mikrob akan semakin banyak terbunuh jika konsentrasi bahan antimikrob tinggi.

Setiap mikrob memiliki respons penghambatan yang berbeda (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak etil asetat *D. hirsuta* dalam menghambat berbagai jenis mikrob uji. Hasil uji aktivitas antimikrob terhadap *S. aureus* memiliki rata-rata diameter penghambatan lebih besar daripada *E. coli* dan *C. albicans*.

Pada penelitian ini, zona hambat terbesar pada *E. coli* sebesar 8,3 mm, *S. aureus* sebesar 10,8 mm, dan *C. albicans* sebesar 10,3 mm. Besarnya zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat *D. hirsuta* termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Penentuan kriteria ini berdasarkan ketentuan kekuatan penghambatan, yaitu diameter penghambatan sangat kuat adalah  $\geq 20$  mm; kuat 10–20 mm; sedang 5–10 mm; kurang atau lemah  $\leq 5$  mm.

Penghambatan oleh bahan antimikrob dilakukan dengan berbagai mekanisme yaitu melalui kerusakan membran sel, penghambatan pembentukan dinding sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi material

**Gambar 1.** Aktivitas antimikrob ekstrak etil asetat *D. hirsuta*

**Tabel 2.** Hasil uji dilusi kultur mikrob uji pada berbagai konsentrasi ekstrak etil asetat *D. hirsuta*.

Mikrob uji	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Jumlah sel (CFU/ml)	Nilai Log TPC
<i>E. coli</i>	0	24,4 X 10 <sup>7</sup>	8,387
	250	18,1 x 10 <sup>6</sup>	7,258
	500	15,0 x 10 <sup>5</sup>	6,176
	1000	26,7 x 10 <sup>6</sup>	7,427
	1500	10,0 x 10 <sup>5</sup>	6
	2000	3,0 x 10 <sup>5</sup>	5,477
	2500	24,2 x 10 <sup>6</sup>	7,384
	5000	75,3 x 10 <sup>6</sup>	7,877
<i>S. aureus</i>	0	12,2 x 10 <sup>6</sup>	7,085
	250	16,1 x 10 <sup>6</sup>	7,206
	500	20,8 x 10 <sup>5</sup>	6,318
	750	52,0 x 10 <sup>5</sup>	6,716
	1000	67,2 x 10 <sup>5</sup>	6,827
	1500	40,0 x 10 <sup>5</sup>	6,602
	2000	5,6 x 10 <sup>5</sup>	5,748
	2500	56 x 10 <sup>5</sup>	6,748
<i>C. albicans</i>	0	43,0 x 10 <sup>7</sup>	8,633
	250	51,0 x 10 <sup>5</sup>	6,708
	500	21,0 x 10 <sup>5</sup>	6,322
	750	5,0 x 10 <sup>5</sup>	5,699
	1000	4,0 x 10 <sup>5</sup>	5,602
	1500	36,0 x 10 <sup>5</sup>	6,556
	2000	11,0 x 10 <sup>6</sup>	7,041
	2500	78,0 x 10 <sup>5</sup>	6,892

genetik sehingga mengganggu proses metabolisme dan pertumbuhan bakteri.

Pada penelitian ini, zona hambat pada *S. aureus* lebih tinggi daripada *E. coli*. Penyebabnya adalah perbedaan potensi kemampuan penghambatan ekstrak etil asetat *D. hirsuta* dalam hal mekanisme pembentukan dinding sel dan perusakan membran sel mikrob. Menurut Pelczar & Chan (1986) bakteri Gram positif lebih peka terhadap senyawa antimikrob terhadap komponen antibakteri. Komponen dinding sel bakteri Gram positif yang sederhana menyebabkan bahan antimikrob lebih mudah menembusnya. Sementara itu struktur komponen dinding *E. coli* lebih kompleks.

Aktivitas antimikrob dapat ditentukan oleh spektrum kerja luas atau sempit, cara kerja bakterisidal atau bakteriostatik dan konsentrasi hambat minimal atau MIC. Suatu bahan antimikrob mempunyai potensi tinggi jika terdapat pada konsentrasi antimikrob rendah dan mempunyai potensi bakterisidal atau penghambatan yang besar (Wattimena *et al.*, 1991). Hasil pengamatan uji dilusi secara kuantitatif terdapat pada Tabel 2.

Penentuan nilai MIC pada penelitian ini tidak diawali dengan pengamatan secara visual karena ekstrak *D. hirsuta* merupakan ekstrak yang berwarna hijau keruh sehingga sulit membedakan kekeruhan kultur uji yang disebabkan warna ekstrak atau hasil pertumbuhan mikrob uji. Penentuan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni mikrob uji. Nilai MIC dapat ditentukan dari MIC ekstrak *D. hirsuta* menyebabkan 90% pertumbuhannya terhambat. Untuk MBC dan MFC juga belum bisa ditentukan karena ekstrak *D. hirsuta* tidak mampu mereduksi 99% dari populasi mikroba awal. Menurut Tortora *et al.* (2007) penentuan nilai MIC dan MBC/MFC penting dilakukan karena untuk menghindari kesalahan dan penggunaan antibiotik yang mahal dan memperkecil reaksi yang beracun akibat dosis yang berlebihan.

## SIMPULAN

Ekstrak etil asetat *D. hirsuta* mengandung flavonoid, alkaloid, dan steroid. Ekstrak etil asetat pada berbagai konsentrasi dapat menghambat pertumbuhan mikrob uji *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, dan *C. albicans* ATCC 10231. Perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas antimikrob dari ekstrak etil asetat *D. hirsuta* dengan variasi konsentrasi yang lebih tinggi untuk mendapatkan nilai MIC dan MBC/MFC terhadap mikrob yang diujikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alam A, Tripathi A, Vats S, Behera KK, Sharma V, 2011. In vitro antifungal of aqueous of *Dumortiera hirsuta* (Swaegr.) Nees against sporulation and growth of postharvest phytopathogenic fungi. *Archieve of Bryology* 103:
- Asakawa Y, Toyota M, Tori M, Hashimoto T, 2000. Chemical Structures of Macrocyclic bis (bibenzyls) Isolated from Liverworts (Hepaticae). *Spectroscopy Journal* 14: 149-175
- Cao H, Xiao JB, Zhou CS, Zhang YW, 2005. Comparison of GC-MS Analysis in Different Extract Parts of *Marchantia convoluta* and Study of Partial Biologic Activity. *Journal Chinese Mass Spectrometry Society* (26): 1-5.
- Chen XQ, Xiao JB, 2005. RP-HPLC-DAD Determination of Flavonoids: Separation of Quercetin, Luteolin and Apigenin in *Marchantia convolute*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* (4): 175-181.
- Chen XQ, Xiao JB, 2006. In Vitro Cytotoxic Activity of Extracts of *Marchantia convoluta* on Human Liver and Lung Cancer cell Lines. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines* (3): 32-36.
- Dorlan, 2002. *Kamus Kedokteran*. EGC. Jakarta
- Fadhilla R, 2010. *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Tumbuhan Lumut Hati (Marchantia paleacea) terhadap Bakteri Patogen Pembusuk Makanan*. Thesis. IPB. Bogor
- Harborne JB, 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB Press.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Junairiah, Moeljopawiro S, Semiarti E., Ni'matuzahroh, 2010. Antivitas antimikroba ekstrak lumut hati *Dumortiera hirsuta*. *Berkala Penelitian Hayati* 16(1):

- Katno dan Pramono S. 2010. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu. Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta
- Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M, Kurniadi B, 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kuswandi M, Irvati S, Asmini P, Hidayati N, 2001. Daya antibakteri minyak atsiri cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap bakteri yang resistensi antibiotika. *Pharmakon*. 2 (2), 51-56
- Nikolajeva V, Liepina L, Petrina Z, krumina G, Grube M, Muiznieks I, 2012. Antibacterial activity of Extracts from some Bryophytes. *Advances in Microbiology* (2): 345-353.
- Pelczar MJ & Chan ECS, 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pelczar MJ & Chan ECS, 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid II*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Robinson T, 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Russel MD, 2010. Antibiotic Activity of extracts from Sime Bryophytes in South Western British Columbia. *Medical Student Journal of Australia*. 2: 9-14.
- Sarker SD & Nahar L. 2009. *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi. Bahan Kimia Organik, Alam, dan Umum*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Supriyono A, 2007. Studi eksplorasi senyawa metabolit sekunder dari biota laut. *Plant Physiology Journal*. 20: 12-14.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL, 2007. *Microbiology on Introduction. 9<sup>th</sup> Edition*. San Fransisco: Pearson Benjamin Cummings.
- Wattimena JR, Sugiarto NC, Widiyanto MB, Sukandar EY, Soemardji AA, Setiadi AR, 1991. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Xiao JB, Jiang XY, Chen XQ, 2005. Antibacterial, Anti-inflammatory and Diuretic Effect of flavonoids from marchantia convoluta. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines* (3): 244-252.
- Xiao JB, Ren FL, Jiang XY, Xu M, 2006. Flavones from *Marchantia convoluta*: Separation of Apigenin 7-O-b-D-Glucoronide and 5-Hydroxyl-7-Methoxyl-2-Methylchromone. *Journal of Pharmaceutical and Allied Sciences* (3): 310-313
- Zhu H, Zhou CS, Huang HB, Wang XX, 2003. Studies on the lipophilic constituents from the leafy body of *Marchantia convolute*. *Guihaia*. (23): 571-573.