

Uji Senyawa Metabolit Sekunder dan Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*

Korlis¹, Bodhi Dharma², dan Hetty Manurung^{2,*}

¹Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Molekuler Program Studi Biologi FMIPA Universitas Mulawarman

²Program Studi Biologi FMIPA Universitas Mulawarman

*Email: hetty_manroe@gmail.com

Abstrak Tumbuhan belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) merupakan pohon perdu yang tumbuh pada ketinggian 700 – 2300 meter di atas permukaan laut. Buah belangla telah lama digunakan oleh masyarakat Dayak Kenyah sebagai obat, Semua bagian pada tumbuhan ini memiliki aroma yang khas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan daya antibakteri ekstrak etanol buah belangla terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari 10 perlakuan, yaitu konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 45%, 40%, 50% dan 2 kontrol yaitu kontrol positif (kloramfenikol 25%) dan kontrol negatif (etanol 95%). Hasil uji senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol buah belangla dianalisis secara kualitatif, sedangkan hasil uji antibakteri menggunakan analisis non-parametrik Kruskal-Wallis dan uji lanjut dengan uji Mann-Whitney. Pada hasil uji senyawa metabolit sekunder, ekstrak buah belangla mengandung senyawa antara lain alkaloid, fenolik, saponin, triterpenoid/steroid. Dan pada uji antibakteri, ekstrak etanol buah belangla bersifat mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata diameter zona hambat optimum terbentuk pada konsentrasi 30% (14,77 mm) terhadap *B. cereus* dan konsentrasi 45% (17,68 mm) terhadap *E. coli*. selanjutnya MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) terbentuk pada konsentrasi 20% terhadap bakteri *B. cereus* (12,2 mm) maupun *E. coli* (11,55 mm). Dari hasil yang diperoleh ekstrak etanol buah belangla menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* dan *E. coli* mendekati daya hambat pada kontrol positif (kloramfenikol).

Kata-kata kunci tumbuhan belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.), senyawa metabolit sekunder, antibakteri, *B. cereus*, *E. coli*.

Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu megabiodiversitas terbesar di dunia. Hutan tropika di Indonesia memiliki keanekaragaman hayati tertinggi ke-2 setelah Brazilia. Dari 400.000 jenis flora di dunia sebanyak 30.000 jenis dijumpai di Indonesia dan 940 jenis diantaranya diketahui berkhasiat sebagai obat yang telah dipergunakan dalam pengobatan tradisional secara turun temurun oleh berbagai etnis [1].

Dunia kesehatan saat ini terus berkembang, arah perkembangan saat ini banyak mengarah kepada kepenggunaan bahan alami. Saat ini obat-obat tradisional masih tetap digunakan oleh masyarakat, hal ini terbukti dari banyaknya peminat pengobatan tradisional. Namun yang menjadi masalah dan kesulitan bagi para peminat obat-obatan tradisional hingga saat ini, adalah kurangnya pengetahuan dan informasi yang cukup tentang berbagai jenis

tumbuhan yang dapat digunakan sebagai ramuan obat-obatan [2].

Di daerah pedalaman Kalimantan, khususnya suku Dayak Kenyah juga sudah terbiasa menggunakan sediaan obat bahan alam dari jaman nenek moyangnya, yang dipercayakan memiliki khasiat obat dan bermanfaat bagi kesehatannya. Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat Dayak Kenyah adalah buah tumbuhan belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.). Pemanfaatan tumbuhan belangla umumnya digunakan sebagai obat demam, batuk, penghangat (obat gosok), aromaterapi, sakit perut, diare, serta dipercaya bisa menyembuhkan berbagai macam penyakit lainnya yang digunakan oleh semua kalangan dari anak-anak hingga dewasa. Tumbuhan ini juga digunakan sebagai bumbu makanan (rempah-rempah) oleh masyarakat.

Berdasarkan hal tersebut penulis melakukan penelitian ini untuk mengetahui

senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol buah belangla dan mengetahui apakah bersifat antibakteri terhadap bakteri *B. cereus* (Gram-positif) dan *E. coli* (Gram-negatif) dengan konsentrasi yang berbeda, serta untuk mengetahui nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan konsentrasi terbaik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Metodologi

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial, dengan 10 perlakuan, 2 kontrol dan 3 ulangan pada tiap perlakuan. Perlakuan pemberian konsentrasi ekstrak buah belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* yaitu dengan konsentrasi 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, kloramfenikol 25% (kontrol positif +) dan etanol 95% (kontrol -)

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan timbangan, blender, botol kedap cahaya, neraca analitik, botol sampel, *rotary evaporator*, gelas ukur, *beaker glass*, corong, tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes, spatula, *beaker glass*, *hotplate*, mikropipet, cawan petri, lidi dengan ujung berkapas, *autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet*, *vortex*, botol ampul, lemari es, pH meter, sprayer, gelas ukur, erlenmayer, lampu bunsen, jarum ose, pinset, aluminium foil, kertas cakram, karet gelang, *magnetic stirrer*, tissue, kapas, kasa, pipet volume, *cling wrap*, *incubator*, kertas label, jangka sorong, kain hitam, kamera digital dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel tumbuhan buah belangla 900 gr, etanol 95% 5 liter, vaselin, aluminium foil, kertas saring, aquadest, ekstrak buah belangla, larutan FeCl_3 1 %, Dragendroff, serbuk Mg, HCl pekat, Asam Asetat Glacial, H_2SO_4 pekat, tissue, aquadest, air panas, biakan bakteri *E. coli* dan *B. cereus*, larutan NaCl 0,9 %, media NA (*Nutrient Agar*), dan LBA (*Luria Bertani Agar*).

Cara Kerja

1. Pembuatan Ekstrak

Diambil sampel buah belangla yang berasal dari desa Sungai Barang Kec. Kayan Selatan Kab. Malinau sebanyak 2050 gram, kemudian dikering anginkan, dihaluskan dengan blender lalu ditimbang menjadi 900

gr. Selanjutnya dimaserasi dengan pelarut etanol 95 %. Didiamkan 3 – 5 hari lalu disaring menggunakan kertas saring, dilanjutkan dengan proses evaporasi. Diperoleh ekstrak etanol buah belangla sebanyak 119,347 gram.

2. Uji Senyawa Metabolit Sekunder

Dimasukkan masing-masing 2 ml ekstrak buah belangla ke dalam 6 tabung reaksi. Dilakukan uji fitokimia alkaloid dengan pereaksi *Dragendroff*, uji steroid/triterpenoid dengan pereaksi *Lieberman-Burchard*, uji flavonoid dengan pita Mg dan HCl pekat, uji fenolik dengan penambahan larutan FeCl_3 dan uji saponin dengan cara penambahan air panas kemudian dikocok kuat.

3. Uji Antibakteri

a. Sterilisasi Alat

Persiapkan alat-alat seperti kertas cakram, pipet volume, cawan petri, lidi dengan ujung berkapas dan pinset dimasukkan ke dalam *autoclave* dan disterilkan selama 20 menit dengan suhu 121°C .

b. Peremajaan Bakteri

Isolat murni bakteri *E. coli* dan *B. cereus* diambil dari media subkultur, sebanyak 1 ose dengan menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan. Kemudian digoreskan pada medium miring NA (*Nutrient Agar*), selanjutnya diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C .

c. Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri disuspensikan kedalam air garam NaCl 0,9% steril, dengan mengambil 1 ose koloni bakteri *E. coli* dan *B. cereus* dari masing-masing media subkultur lalu *vortex* sampai homogen.

d. Pembuatan Medium *Luria Bertani Agar* (LBA)

Ditimbang NaCl 3 gr, pepton 5 gr, yeast ekstrak 3 gr, agar sebanyak 7,5 gr dilarutkan ke dalam aquades sampai 500 ml. Dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*, lalu dipanaskan di atas *hotplate*, kemudian disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C .

e. Penanaman pada Medium LBA

Medium LBA yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri, lalu dibiarkan memadat dan dingin. Lidi kapas yang sudah disterilkan dicelupkan pada suspensi bakteri *E. coli* dan *B. cereus* dan dioleskan secara merata pada permukaan medium LBA. Kemudian dicelupkan kertas cakram (diameter 6 mm) pada perlakuan dan ditranfer pada medium LBA dengan menggunakan pinset, lalu

diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diukur diameter daerah jernih sekitar kertas cakram (zona hambat) menggunakan jangka sorong.

4. Teknik Analisis Data

Hasil pengukuran rata-rata zona hambat antibakteri dianalisis dengan program *Statistical Packed Sosial and Science* (SPSS) 22 secara non-parametrik yaitu dengan menggunakan Uji *Kruskal-Wallis* dan uji lanjut *Mann-Whitney*. Lalu ditampilkan dengan menggunakan nilai rata-rata dari 3 ulangan dan Standar Deviasi (SD).

Hasil dan Pembahasan

1. Uji Senyawa Metabolit Sekunder

Hasil ekstraksi buah belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) kering 900 gr menghasilkan ekstrak sebanyak 119,347 gr. Rendemen ekstrak buah belangla diperoleh sebesar 13,26 %. Ekstrak tersebut dihasilkan dari proses maserasi dengan perendaman dalam etanol 95% dan disaring menggunakan kertas saring. Lalu dipekatkan menggunakan *Rotary Evaporator* untuk memisahkan pelarut dengan zat aktif yang ada pada tumbuhan, yaitu dengan cara menguapkan etanol.

Pada penelitian ini uji senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol buah belangla diketahui positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, fenolik, steroid, dan saponin, namun tidak mengandung senyawa flavonoid. Hasil pengujian senyawa metabolit sekunder dari buah belangla pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Hasil Uji Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Buah Belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.)

Senyawa Metabolit sekunder	Hasil Uji Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil Pengamatan Warna Larutan Setelah Reaksi
Alkaloid	+	Terbentuk endapan merah-jingga
Flavonoid	-	Tidak terjadi perubahan warna
Fenolik	+	Terbentuk warna hijau kehitaman
Triterpenoid/Steroid	+	Terbentuk warna hijau
Saponin	+	Terbentuk busa setinggi 1 cm

Keterangan : + (senyawa terdeteksi)
- (senyawa tidak terdeteksi)

2. Uji Antibakteri

Pada hasil penelitian uji antibakteri ekstrak buah belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) setelah masa inkubasi 24 jam suhu 37°C terbentuk zona bening (hambat) disekitar kertas cakram pada medium pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*. Adapun data hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak buah belangla yang terbentuk terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) dari Ekstrak Buah Belangla (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*

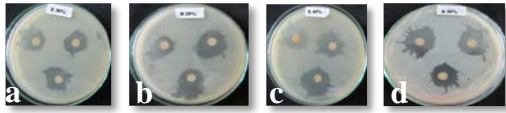
Konsentrasi Ekstrak (v/v)	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Kontrol (-)	0 ^a	0 ^a
Kontrol (+)	14,67±0,590 ^b	10,18±6,907 ^b
5%	7,07±5,590 ^c	4,79±6,625 ^c
10%	13,32±2,239 ^{bcd}	8,84±2,350 ^{bcd}
15%	10,66±6,156 ^{bcdde}	10,37±5,388 ^{bde}
20%	12,2±0,873 ^{bcddef}	11,55±1,080 ^{bdef}
25%	12,95±2,176 ^{bcdetg}	11,08±3,726 ^{bdefg}
30%	14,77±1,671 ^{bdfgh}	12,47±1,528 ^{bdefgh}
35%	19,58±0,851 ⁱ	15,55±1,042 ^{deghni}
40%	13,64±6,457 ^{bdefghj}	13,49±3,700 ^{bdefghij}
45%	14,54±5,012 ^{bdfghjk}	17,68±2,850 ^{ijk}
50%	18,95±1,617 ⁱ	18,34±2,907 ^{ijk}

Keterangan:

- Nilai standar deviasi dan rata-rata diameter zona hambat merupakan rerata dari 3 ulangan.
- Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji *Mann-Whitney*.

Terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram (hambatan) pada medium agar, menunjukkan bahwa ekstrak buah belangla memberi pengaruh pada pertumbuhan bakteri uji. Hasil analisis sidik ragam (*Kruskal-Wallis* dan *Mann Whitney*) menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk pada perlakuan konsentrasi ekstrak buah belangla berbeda nyata pada bakteri *B. cereus* maupun *E. coli*.

Berdasarkan hasil penelitian pengukuran rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk baik pada bakteri *B. cereus* maupun *E. coli* bervariasi, yaitu terjadi penurunan luasan diameter zona hambat pada beberapa konsentrasi.



Gambar 1. Diameter MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) (a. konsentrasi 20% pada *B. cereus*, b. konsentrasi 20% pada *E. coli*,) dan diameter zona hambat terbaik (c. konsentrasi 30% pada *B. cereus*, dan d. konsentrasi 45% pada *E. coli*).

Pada umumnya, diameter zona hambat cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Tetapi pada penelitian ini terdapat penurunan diameter luas zona hambat pada beberapa konsentrasi yang lebih besar, seperti diameter zona hambat bakteri *B. cereus* yaitu pada konsentrasi 10% ke 15% dan 35% ke 40%. Begitu juga diameter zona hambat bakteri *E. coli*, yaitu pada konsentrasi 20% ke 25% dan 35% ke 40%. Hal serupa dialami juga oleh [3], dimana diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi zat antibakteri. Menurut [4], pembentukan zona hambat efektivitas antibakteri dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti suhu inkubasi, waktu inkubasi, homogenitas serta kepekatan mikroba. Faktor lain yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambatan menurut [5], antara lain kekeruhan suspensi bakteri, waktu pengeringan/peresapan kedalam media agar, tebalnya agar-agar dan jarak antar.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol buah belangla antara lain alkaloid, fenolik, saponin dan triterpenoid/steroid. Ekstrak etanol buah belangla mampu menghambat pertumbuhan bakteri baik *Bacillus cereus* (Gram-positif) maupun *Escherichia coli* (Gram-negatif) dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak etanol buah belangla dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu pada konsentrasi 20% terhadap *B. cereus* (12,2 mm) maupun pada *E. coli* (11,55 mm). Sedangkan konsentrasi penghambat terbaik adalah konsentrasi 30% terhadap bakteri *Bacillus cereus* (14,77 mm) dan pada bakteri *Escherichia coli* adalah konsentrasi 45% (17,68 mm).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Mikrobiologi

dan Genetika Molekuler, Kepala Laboratorium Bioproses beserta seluruh Laboran atas fasilitas yang diberikan untuk melakukan penelitian ilmiah ini. Demikian pula, penulis berterima kasih kepada Ibu Hetty Manurung, M. Si beserta Bapak Dr.rer.nat. Bodhi Dharma, M.Si atas dikusinya yang bermanfaat.

Referensi

- [1] Wijayakusuma, H.M.H. 2007. Penyembuhan dengan Mengkudu. Sarana Pustaka Afiat. Jakarta.
- [2] Thomas. 1992. Tanaman Obat Tradisional I. Kanisius. Yogyakarta.
- [3] Elifah, E. 2010. Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum*, D. Don) Terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. Skripsi. FMIPA UNS, Surakarta.
- [4] Jawetz., Melnick dan Adelberg. 2008. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25. EGC. Jakarta.
- [5] Soemarno. 2000. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. Akademi Analisis Kesehatan Yogyakarta. Yogyakarta.