Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Etanol Gubal Tanaman Gaharu (*Gyrinops Versteegii(Gilg) Domke*)

Antibacterial Activities Of Secondary Metabolite Compounds In Ethanol Extractof Gaharu Plant (*Gyrinops Versteegii (Gilg) Domke*)

Nia Silvia Sukma

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Intan Yogyakarta, Yogyakarta 55284
**Email* : niasilvia.chemist@gmail.com

INTISARI

Pulau Lombok telah berhasil membudidayakan tanaman gaharu dari spesies Gyrinops versteegii (Gilg) Domke. Namun, gubal dari tanaman ini belum dimanfaatkan secara optimal karena kurangnya informasi mengenai metabolit sekunder yang terkandung di dalam gubal gaharu Gyrinops versteegii (Gilg) Domke. Melalui pendekatan chemotaxonomy diduga bahwa ekstrak etanol gubal gaharu mengandung senyawa metabolit sekunder dengan bioaktivitas antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan golongan metabolit sekunder pada ekstrak etanol gubal gaharu Gyrinops versteegii (Gilg) Domke dan menentukan aktivitas antibakteri metabolit sekunder yang dikandungnya. Analisis kandungan metabolit sekunder menggunakan uji kualitatif terhadap senyawa terpenoid, flavonoid, saponin, tannin, dan alkaloid. Selanjutnya ekstrak etanol gubal difraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom untuk mendapatkan fraksi dan senyawa murni. Pengujian antibakteri dilakukan terhadap ekstrak etanol gubal gaharu Gyrinops versteegii (Gilg) Domke dan senyawa murni yang diperoleh pada beberapa spesies bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Dari hasil penapisan fitokimia didapatkan bahwa ekstrak etanol gubal tanaman gaharu Gyrinops versteegii (Gilg) Domke mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin, dan terpenoid, Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol gubal Gyrinops versteegii (Gilg) Domke menunjukkan aktivitas pada konsentrasi 0,1% terhadap bakteri Staphylocccus aureus dan Streptococcus viridians, sedangkan uji antibakteri senyawa murni menunjukkan aktivitas pada konsentrasi 0,1% terhadap bakteri Staphylocccus aureus dan Streptococcus viridians.

Kata kunci: ekstrak etanol gubal *Gyrinops versteegii* (Gilg) Domke, aktivitas antibakteri, metabolit sekunder

ABSTRACT

Lombok Island has successfully cultivated gaharu plants from the Gyrinops versteegii (Gilg) Domke species. However, sapwood from this plant has not been optimally utilized due to lack of information about secondary metabolites contained in gaharu pig Gyrinops versteegii (Gilg) Domke. Through chemotaxonomy approach it is assumed that gaharu ethanol extract contains secondary metabolite compound with antibacterial bioactivity. The purpose of this study was to determine the secondary metabolite group in the extract of gaharu ethanol and determine the antibacterial activity of the secondary metabolites it contained.Analysis of secondary metabolite content using qualitative tests of terpenoid compounds, flavonoids, saponins, tannins, and alkaloids. Furthermore, sulfur ethanol extract was fractionated by using column chromatography to obtain pure fraction and compound. Antibacterial testing was performed on gaharu ethanol extract of Gyrinops versteegii (Gilg).

Keywords: *ethanol extract sapwood Gyrinops versteegii (Gilg) Domke, antibacterial activity, secondary metabolite*

PENDAHULUAN

Gaharumerupakansalah satu tanaman yang bernilai ekonomitinggi karena dapat menghasilkan gubal berupa kayu yang mengalami pelapukan akibatserangan beberapa spesies jamur dan bakteri (Zubaidi, 2008). Gubal gaharu mengandung resinyang beraroma harum dan dimanfaatkan pada industri parfum,dupa, dan obat-obatan (CITES, 2004). Selain itu, gaharu dapat menjadi salah satu tanaman obat masa depan karena dalam gubalterkandung berbagai senyawa aktif seperti *agarospirol*, *aquilochin*, dan *noroksoagarofuran* yang digunakan sebagai obat asma, hepatitis, dan antimikroba (Anonim, 2009).

Provinsi NTB (Nusa Tenggara Barat) khususnya Pulau Lombok, merupakan salah satu daerah yang telah berhasil membudidayakan tanaman gaharu dari spesies *Gyrinopsversteegii* (Gilg) Domke. Namun pemanfaatan gubal dari spesies ini masih terbatas hanya sebagai bahan pembuatan parfum. Hal ini disebabkan karena kurangnya informasi mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder dalam gubal dari spesies*Gyrinopsversteegii* (Gilg) Domke, sehingga potensinya belum dimanfaatkan secara optimal.

Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak gubal gaharu dari genus lain yaitu*Aquilaria*mengandung senyawa bioaktif berupa *sesquiterpene* dan *phenylethyl chromone* (Okudera, *et al.*, 2009). Senyawa-senyawa tersebut secara klinis dapat bermanfaat sebagai obat terutama untuk mengobati penyakit akibat infeksi bakteri (Sumarna, 2005).Dash,*et al.*, (2008) juga melaporkan adanyaaktivitas antibakteri yang cukup tinggi pada spesies *Aquilaria agallocha* Roxb. Senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri tersebut pada umunya bersifat semipolar dan terlarut dalam pelarut etanol.

Berdasarkan pendekatan *chemotaxonomy*, kemungkinan keberadaan senyawa metabolit sekunder dengan bioaktivitas antibakteri pada gubal tanaman gaharu dari genus *Gyrinops* sangat besar karena berasal dari famili yang sama yaitu Thymelaeceae. Namun, berdasarkan penelurusan literatur belum pernah dilakukan penelitian untuk membuktikan hal tersebut. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak gubal tanaman gaharu dari genus *Gyrinops* dengan judul "Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Gubal Tanaman Gaharu (*Gyrinops versteegii* (Gilg) Domke)".

BAHAN DAN METODE

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, neraca analitik, gelas kimia, pengaduk, corong, 1 (satu) set *rotary evaporator*, pipet ukur, bulb, tabung reaksi, gelas kimia, rak tabung reaksi, penangas air, chamber, pinset, pipet tetes, botol vial, vial sampel, pipa kapiler, penangas air, 1 (satu) set kromatografi kolom, 1 (satu) set kabin lampu UV 365 nm dan UV 254 nm, gunting.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalsam penelitian ini adalah gubal gaharu *Gyrinops versteegii* (Gilg) Domke yang berasal dari Kekait, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Etanol, Aquades, n-hexana, diklorometana, H_2SO_4 pekat, kloroform, $FeCl_3$0,1%,HCl 2M , HCl pekat, pereaksi Dragendorf, kertas saring, silika gel 60 mesh, aseton, logam Mg, kertas label, tissue, aluminium foil, sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah gubaltanaman gaharu spesies *Gyrinops versteegii* (Gilg)Domke yang sudah kering berasal dari pohon induk gaharu pada lokasi penanaman di Kekait Lombok Barat. Gubal gaharu tersebut diremukkan sehingga menjadi potongan-potongan kecil-kecil dan dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga menghasilkan simplisia gubal.

Gambar 1. Gubal gaharu

2. Metode penelitian

a. Ekstraksi Gubal Gaharu

300,10 gram simplisia gubal gaharu dimaserasi dengan pelarut etanol selama 10 hari sambil sekali-sekali diaduk. Ekstrak yang telah berwarna kemudian dipindahkan ke bejana rotary evaporator dan dipekatkan. Ekstrak kental kemudian dikumpulkan dalam satu wadah dan dipersiapkan untuk penapisan fitokimia dan fraksinasi

b. Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Gubal

Prosedur penapisan fitokimia mengikuti Mojab, faraz *et al*., (2002) dan Edeoga,*et al*., (2003). dengan beberapa penyesuaian.

1. Uji terpenoid (*Salkowski test*)

Sebanyak 5 ml ekstrak etanoldilarutkan dalam 2 ml kloroform kemudian 3 ml H_2SO_4 pekat ditambahkan hingga terbentuk lapisan (warna merah kecoklatan pada lapisan atas mengindikasikan adanya terpenoid).

2. Uji alkaloid

Sebanyak 2,5 gram ekstrak pekat ditambahkan 5 ml HCl 2M kemudian dipanaskan hingga mendidih. Setelah dingin dan disaring, filtrat kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Dragendorf (jika terbentuk endapan warna merah bata mengindikasikan adanya senyawa golongan alkaloid).

3. Uji tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak pekat dilarutkan dalam 20 ml aquades kemudian didihkan kemudian disaring. Selanjutnya filtrat ditambahkan larutan $FeCl_3$ 0,1% (jika terbentuk warna hijau tua pada filtrat mengindikasikan adanya senyawa golongan tanin).

4. Uji saponin

Sebanyak 2 gram ekstrak pekat dilarutkan dalam 20 ml aquades dan didihkan kemudian disaring. 10 ml filtrat dilarutkan kembali dengan 5 ml aquades kemudian dikocok (jika terbentuk busa yang lama hilang maka diindikasikan adanya senyawa golongan saponin).

5. Uji flavonoid (*Wilstater test*)

Sebanyak 1 gram ekstrak pekat dilarutkan dalam HCl pekat dan ditambahkan 0,5 gram logam Mg (jika terbentuk warna merah tua mengiindikasikan adanya senyawa golongan flavonoid).

c. Pemisahan dan Pemurnian Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Gubal

Pemilihan eluen atau sistem pelarut dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis yang kemudian diamati pemisahannya menggunakan lampu UV 254 nm, lampu UV 365 nm, dan detektor iodin. Sistem eluen yang dapat memisahkan spot dengan baik kemudian digunakan pada tahap fraksinasi untuk mendapatkan fraksi-fraksi dari ekstrak gubal.

d.Fraksinasi Ekstrak Etanol Gubal Gaharu

Pada tahap ini dilakukan fraksinasi dengan tujuan untuk melihat pola pemisahan spot tiap fraksi.Sejumlah 5,81 gram sampel

dimasukkan ke dalam kromatografi kolom berdiameter 2 cm dan tinggi silika 22 cm. Kemudian eluen dialirkan (eluen yang dialirkan harus tetap dikontrol, jangan sampai silika menjadi kering). Eluat ditampung dengan menggunakan botol vial dengan volume masing-masing fraksi adalah 3 mL.Tiap fraksi kemudian dimonitor dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dipadukan dengan eluen yang telah ditentukan.

e. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Gubal

Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol gubal pada konsentrasi 0,1%, 0,01%, dan 0,001%, serta senyawa murni pada konsentrasi 0,1%, dan 0,01% . Uji antibakteri dari ekstrak gaharu dilakukan dengan metode difusi sumuran. Sebanyak satu oase bakteri uji yang berumur 1x24 jam dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCL fisiologis steril dan setarakan dengan Mac Farland 0,5. Selanjutnya lidi kapas steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditekan pada bagian dindingnya dan digoreskan secara merata pada media NA. Setelah itu dibuat sumuran dengan diameter 7 mm, didiamkan beberapa menit lalu ekstrak yang dibuat dengan beberapa konsentrasi dimasukkan sebanyak 100 µL ke dalam sumuran yang telah dibuat dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37^0C. Zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran menunjukkan bahwa ekstrak tersebut menghasilkan senyawa antibakteri.Data hasil uji antibakteri yang diperoleh dari penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel. Kemudian data tersebut dianalisis secara deskriptif dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan yang terbentuk serta mengukur dan membandingkan diameter zona hambatan pertumbuhan dari beberapa bakteri uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Ekstraksi Gubal Gaharu

Gubal diperkecil pemukaannya dengan cara diremukkan kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga menghasilkan 300,10 gram simplisia gubal. Upaya ini dilakukan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi gubal dengan pelarutnya.Ekstraksi adalah proses menarik senyawa-senyawa aktif dari dalam sel tumbuhan ke luar sel dengan menggunakan pelarut..Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi didasari oleh kemampuannya dalam mengekstrak senyawa-senyawa target. Dari penelitian pendahuluan didapatkan informasi bahwa senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yang terkandung dalam gubal, bersifat semipolar dan dapat larut dalam pelarut etanol. sebanyak 300,10 gram simplisia gubal yang telah direndam dalam pelarut etanol selama 10 hari menghasilkan ekstrak yang berwarna merah tua. Ekstrak tersebut kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkanekstrak pekat gubal sebanyak 44,39 gram atau sekitar 14,791% dari berat simplisia.

b. Penapisan Fitokomia Ekstrak Etanol Gubal

Untuk identifikasi golongan metabolit sekunder pada ekstrak gubal gaharu dilakukan beberapa uji fitokimia, antara lain: uji terpenoid, uji flavanoid, uji tanin, uji saponin, dan uji alkaloid. Berikut adalah hasilnya:

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Gubal

No	Golongan Metabolit Sekunder	Indikasi	Perubahan Warna yang Terjadi
1.	Terpenoid	(+)	kuning menjadi merah tua
2.	Alkaloid	(-)	kuning menjadi kemerahan tanpa endapan
3.	Tanin	(+)	kuning menjadi hijau kekuningan
4.	Saponin	(-)	kuning dan tidak terbentuk busa
5.	Flavonoid	(+)	kuning menjadi kemerahan dengan kabut putih

Tabel diatas menunjukkan bahwa kayu gaharu setelah diinokulasi menghasilkan resin yang mengandung senyawa terpenoid, flavonoid, dan tannin.

c. Pemisahan dan Pemurnian Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Gubal

Dalam mencari eluen yang yang dapat memisahkan spot pada KLT digunakan beberapa pelarut dengan komposisi yang berbeda-beda. Berdasarkan uji dan coba eluen dari yang bersifat paling polar menuju sifat yang paling nonpolar maka dihasilkan perbandingan eluen n-heksana:DCM/2:98 sebagai eluen yang paling baik untuk memisahkan spot pada KLT. Eluen ini bersifat agak nonpolar yang mengindikasikan sifat agak nonpolar pada senyawa-senyawa yang terkandung dalam gubal. Eluen ini kemudian digunakan pada tahap fraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom.

c. Fraksinasi Ekstrak Etanol Gubal Gaharu

Berdasarkan hasil fraksinasi diperoleh fraksi yang diduga merupakan senyawa murni atau tunggal. Spot tunggal tampak saat dimonitor dengan KLT dan terlihat berpendar biru dibawah sinar UV 365 nm, coklat dibawah sinar UV 254 nm dan setelah diuapkan iodine dengan nilai Rf =1. Senyawa yang berpendar dibawah sinar UV memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus kromofor (Harborne, 2006). Bubuk putih tersebut bersifat semi-polar hingga nonpolar karena larut dalam pelarut diklorometana dan n-heksana.

d. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Gubal

Pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol dan senyawa murni gubal ditujukan sebagai titik awal dalam penelusuran potensi gubal sebagai agen antibakteri. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif meliputi, *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Streptococcus viridians* danbakteri Gram negatif meliputi, *Escherichia colli*, *Klabsiella pneumonia* dan *Pseudomonas aeroginosa,* sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah aseton.Berikut adalah hasil uji antibakteri pada ekstrak etanol gubal gaharu.

Tabel 2. hasil uji antibakteri pada ekstrak etanol gubal gaharu

Larutan Uji	**Diameter Hambatan Masing-Masing Zona Bakteri (mm)**					
	Bakteri Gram negatif			**Bakteri Gram Positif**		
	E. *colli*	**K. *Pneumonia***	**B. *cereus***	**S. *aureus***	**S. *viridians***	**P. *aerogenosa***
Ekstrak etanol 0,1%	-	12*	-	11	11	-
Ekstrak etanol 0,01%	-	12*	-	-	-	-
Ekstrak etanol 0,001%	-	12*	-	-	-	-
Senyawa murni 0,1%	-	-	-	20	17	-
Senyawa murni 0,01%	-	-	-	-	-	-
Kontrol	-	-	-	-	-	-

Keterangan: *: Bakteriostatik

Menurut Cowan (1999), aktivitas antibakteri disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder seperti tanin dan flavonoid pada ekstrak. Hal inimemperkuat hasil pengujian antibakteri pada ekstrak etanol gubal karena hasil penapisan fitokimia menyatakan bahwa selain terpenoid ekstrak etanol gubal juga mengandung senyawa-senyawa flavonoid, dan tanin.

Uji aktivitas ekstrak etanol pada konsentrasi 0,1% menghambat pertumbuhan bakteri hanya dari jenis bakteri Gram positif (*Staphylocccus aureus* dan S*treptococcus viridians*) dengan nilai diameter zona hambat masing – masing sebesar 11 mm. Respon yang berbeda dari dua golongan bakteri terhadap ekstrak ini disebabkan karena adanya perbedaan kepekaan pada bakteri Gram positif dan bakteri Gramnegatif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak kasar gubal. Bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri Gram positif lebihsederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

Zona bening yang tidak merata menandakan adanya aktivitas bakteriostatik pada bakteri Gram positif *Klabsiella pneumonia* setelah dipengaruhi oleh ekstrak etanol gubal pada konsentrasi 0,1%, 0,01% dan 0,001%. Bakteriostatik adalah zat antibakteri yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (menghambat perbanyakan populasi bakteri), namun tidak mematikan.Uji senyawa murni pada konsentrasi 0,1% mampu menghambat pertumbuhan bakteri dari spesies Gram positif, yaitu *Staphylocccus aureus* dan S*treptococcus viridians* dengan nilai diameter zona hambat masing-masing 20 mm dan 17 mm. Spektrum hambatan yang luas mengindikasikan bahwa senyawa yang tekandung dalam larutan uji memiliki kemampuan besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri sehingga prospeknya sebagai agen antibakteri dapat diperhitungkan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian didapatkan informasi bahwa ekstrak etanol gubal dari tanaman gaharu *Gyrinops versteegii* (Gilg) Domke terindikasi mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, tanin, dan terpenoid. Ekstrak etanol gubal tanaman gaharu *Gyrinops versteegii* (Gilg) Domkedan senyawa murni memiliki aktivitas antibakteri

pada konsentrasi 0,1% terhadap *Staphylocccus aureus* dan S*treptococcus viridians*. Diameter Zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol adalah 11 mm pada masing-masing bakteri, sedangkandiameter zona hambat yang dihasilkan senyawa murni pada masing-masing bakteri adalah 20 mm dan 17 mm pada masing-masing bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 2009. Didownload dari http://wahanagaharu.blogspot.com/2009/02/wangi-gaharu.html [18 oktober 2010].

CITES, 2004. *Significant trade in plants. Implementation of Resolution Conf. 12.8. Progress with the implementation of species,*review(PC 14 Doc. 9.2.2).

Dash, manashi *et al.*,2008. *Phytochemical and antimicrobial screening of extracts Aquilaria agallocha Roxb.Full Length Research Paper.*African Journal of Biotechnology Vol. 7 (20), pp. 3531-3534.

Edeoga, H.O., D. E. Okwu., B.O Mbaebie. 2003. *Phytochemical constituents of Some Nigerian Medicinal Plants.* African Journal of Biotechnology Vol. 4 (7) : 685-688.

Kusmiyati, dan Agustini. 2007. *Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari MikroalgaPorphyridium cruentum.* Biodiversitas volume 8: 48-5.

Mojab, F. *et al*., 2002. *Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants.* Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2003: 77-82.

Okudera, Y. 2009. *Production of Agarwood Fragrant in Aquilaria calli and Cell Suspension Culltures. Plant Biotechnology* 26: 307-315.Sumarna Y. 2005. *Budidaya Gaharu*. Bogor: Penebar Swadaya.

Zubaidi A., 2008. *Pertumbuhan Bibit Gaharu Pada Beberapa Jenis Naungan.* Fakultas Pertanian: UNRAM.