KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA EKSTRAK UMBI BAWANG TIWAI (*Eleutherine bulbosa* (MILL.) URB.)

Mahfuzun Bone^{1*}, Yusnita Rifai², Gemini Alam³

¹ Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

² Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

*Email korespondensi: fuzunpharm31@gmail.com

ABSTRACT

E. bulbosa is a typical plant in Kalimantan, this plant has been used for generations by Dayak community as an antibacterial. This study aimed to determine the characterization of *E. bulbosa* active antimicrobial compound. The first stage of this research is extraction *E. bulbosa* using methanol and liquid partition using *n*-hexane, ethyl acetate, *n*-butanol. Antimicrobial screening test extracts of methanol, *n*-hexane, ethyl acetate, *n*-butanol concentrations 1 mg/mL. Extraction of *n*-hexane fractionation by vacuum liquid chromatography and then refractionation by using *sepacore*. The active fraction isolation by using thin layer chromatography preparative, obtained *E. bulbosa* active isolates. Characterization active isolates *E. bulbosa* by Identification based on chromatogram showed *E. bulbosa* active isolates is class of naphthalene. The interpretation FTIR spectroscopy of *E. bulbosa* active isolates indicates the group-OH, CH alifatis, and C=O. The ¹H NMR spectrum of *E. bulbosa* active isolates indicates spectrum of H-6 at δ 6,92 ppm Mult. doublets and J 10,5 Hz, spectrum of H-8 at δ 7,75 ppm, Mult. doublets and J 10,5 Hz, spectrum of H-9 at δ 6,29 ppm, and spectrum H-11 at δ 3,21 ppm. Minimum inhibitory concentration of *E. bulbosa* active isolates for *V. cholera*, *B. subtilis*, *S. mutans*, *S. aureus* 125 ppm and *E. coli* 250 ppm. Concluded the *E. bulbosa* active isolates show compound class of naftalen and has antimicrobial activity.

Key words: *E. bulbosa*, Characterization, Antimicrobial Potential

ABSTRAK

Eleutherine bulbosa adalah tanaman khas suku Kalimantan yang telah digunakan secara turun-temurun sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakterisasi senyawa aktif antimikroba *E. bulbosa*. Tahapan penelitian diawali dengan ekstraksi *E. bulbosa* dengan pelarut metanol dan partisi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol. Uji Skrining antimikroba ekstrak metanol, *n*-heksana, etil asetat, dan *n*-butanol dengan konsentrasi 1 mg/mL. Ekstrak *n*-heksana difraksinasi dengan kromatografi cair vakum dan direfraksinasi kembali menggunakan *sepacore*. Fraksi aktif diisolasi dengan kromatografi lapis tipis preparatif dan diperoleh isolat aktif *E. bulbosa*. Hasil Identifikasi berdasarkan kromatogram menunjukkan isolat aktif *E. bulbosa* adalah golongan naphthalene. interpretasi data spektroskopi FTIR isolat aktif *E. bulbosa* menunjukkan adanya gugus OH hidroksil, CH alifatik, dan C=O. Hasil Interpretasi data ¹H NMR isolat aktif *E. bulbosa* menunjukkan Data ¹H NMR memperlihatkan adanya spektrum dari atom H-6 dengan nilai δ 6,92 ppm Mult. doublet dan J 10,5 Hz, spektrum dari atom H-8 dengan nilai δ 7,75 ppm, Mult. doublet dan J 10,5 Hz, spektrum dari atom H-9 dengan nilai δ 6,29 ppm, dan spektrum H-11 dengan nilai δ 3,21 ppm. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) isolat aktif *E. bulbosa* terhadap bakteri uji *V. cholera*, *B. subtilis*, *S. mutans*, *S. aureus* 0,0125% dan

bakteri *E. coli* 0,025%. Disimpulkan bahwa isolat aktif *E. bulbosa* adalah golongan senyawa naftalen dan memiliki aktivitas antimikroba.

Kata Kunci: *E. bulbosa*, Karakterisasi, Potensi antimikroba

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i1.119>

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia sejak dahulu telah mengenal dan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat dalam penanggulangan masalah kesehatan baik berupa pencegahan maupun pengobatan. Pemanfaatan tumbuhan obat tersebut merupakan pengetahuan dan pengalaman yang diwariskan secara turun-temurun oleh nenek moyang mereka, sehingga dihasilkan berbagai ramuan herbal yang merupakan ciri khas penggunaan obat tradisional Indonesia [1].

E. palmifolia dari famili iridaceae merupakan satu dari sekian banyak tumbuhan obat yang telah digunakan secara luas sebagai obat tradisional. Bagian umbi dari tumbuhan ini telah digunakan pada resiko kanker otak oleh masyarakat lokal di Kalimantan, juga pada resiko kerusakan hati, sebagai imunostimulan, anti-inflamasi, dan anti-tumor [2],[3]. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan *E. bulbosa* mengandung beberapa senyawa aromatik dan senyawa glikosida seperti eleuterinon, eleuterin, isoeleuterin, eleuterol [4].

Le dkk (2012), selama skirining tanaman obat untuk aktivitas anti-inflamasi, menemukan bahwa ekstrak metanol dari *E. bulbosa* berpotensi menghambat lipopolisakarida untuk merangsang produksi IL-12 p40 dan IL-16 sitokin di sumsum tulang yang berada di sel dendritik dengan dinilai IC₅₀ masing-masing $0,1 \pm 0,05$ dan $16,2 \pm 0,3$ µg/ML [5]. Lebih lanjut Budityastomo (2010), menjelaskan dalam menghambat ekspresi Cyclin-E pada fraksi etanol *E. palmifolia* menunjukkan pada konsentrasi 18,75 µg/mL, 37,5 µg/mL, dan 75 µg/mL

menyebabkan penurunan ekspresi cyclin-E masing-masing 65%, 38,7%, dan 4% [6].

Ifesan dkk (2010), menguji aktivitas antimikroba ekstrak etanol *E. americana* pada beberapa mikroba. Hasilnya menunjukkan nilai konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba (MIC) terhadap bakteri *bacillus subtilis* 0,125 mg/mL, *Staphylococcus aureus* 0,25 mg/mL, *Streptococcus spp.* 0,25 mg/ML [7]. Lebih lanjut Kalidass dkk (2012), menguji aktivitas antibakteri ekstrak kasar *E. americana* terhadap bakteri *Streptococcus sp.* Ekstrak menunjukkan pada konsentrasi 0,1 mg/mL dapat menghambat bakteri *Streptococcus sp* [8].

Tujuan penelitian ini untuk menentukan karakterisasi senyawa aktif ekstrak *E. bulbosa* dan mengetahui potensi antimikroba dari ekstrak tersebut.

METODE

Lokasi dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Laboratorium Biofarmaka Pusat Kegiatan Penelitian Universitas Hasanuddin, dan Laboratorium Dendrologi Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman. Jenis penelitian adalah *experimental laboratories*.

Metodologi Penelitian

Sampel *E.bulbosa* diperoleh dari kota samarinda Kalimantan Timur. Ekstrak *E.bulbosa* diperoleh dengan mengekstraksi *E. bulbosa* menggunakan

pelarut metanol dan dipartisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan n-butanol. Ekstrak yang diperoleh diuji skrining antimikroba terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, *S. mutans*, *B. subtilis*, *S. disenti*, *V. cholera*, *P. aereginosa*, *C. albicans* pada medium Glukosa Nutrien Agar (GNA) menggunakan metode difusi padat dengan konsentrasi 0,1%. Suspensi bakteri dibuat berdasarkan kekeruhan dari larutan 0,5 McFarland sebagai standar. Ekstrak n-heksan yang memiliki aktivitas antimikroba paling baik difraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan refraksinasi dengan Sepacore menggunakan eluen n-heksan – etil asetat. Subfraksi *E. bulbosa* diisolasi dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) menggunakan eluen n-heksan – etil asetat (7:3).

Isolat *E. bulbosa* yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi menggunakan pereaksi semprot KOH etanolik 10% ^{FTIR}. Vis, FTIR, ¹H NMR. Pengujian potensi antimikroba isolat aktif *E. bulbosa* menggunakan metode dilusi cair terhadap bakteri *E. coli*, *V. cholera*, *B. subtilis*, *S. aureus*, dan *S. mutans* untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM), dimana konsentrasi yang digunakan 0,1%, 0,05%, 0,025%, 0,0125%, dalam medium Glukosa Nutrien Broth (GNB). Uji lanjutan potensi antimikroba dengan metode difusi agar menggunakan *paper disc*, dimana konsentrasi yang digunakan 0,1%, 0,05, 0,025%, 0,0125% (konsentrasi berdasarkan uji KHM) pada medium GNA. Pelarut DMSO sebagai Kontrol negatif dan antibiotik kloramfenikol 0,0125% sebagai kontrol positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari ekstraksi dan partisi cair-cair umbi *E. bulbosa* diperoleh ekstrak metanol sebanyak 101,58 g, ekstrak n-heksan 24,59 g, ekstrak etil asetat 13,79 g, dan ekstrak n-butanol 9,86. Hasil identifikasi isolat aktif *E. bulbosa*

menggunakan pereaksi semprot KOH etanolik 10% menghasilkan warna merah pada UV 366 nm. Hasil Karakterisasi isolat aktif *E. bulbosa* dengan FTIR diperoleh puncak serapan 3439 cm⁻¹ menunjukkan gugus (OH), puncak serapan 2926 dan 2856 cm⁻¹ menunjukkan gugus CH alifatik, puncak serapan 1564 dan 1460 cm⁻¹ menunjukkan cincin aromatik, puncak serapan 1732 cm⁻¹ menunjukkan gugus C=O, puncak serapan 1651 cm⁻¹ menunjukkan Gugus C=C (Gambar 1). Karakterisasi dengan ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) menunjukkan adanya spektrum pada δ 6,92 ppm (1H, d, J = 10,5 Hz, H-6), δ 7,75 ppm (1H, d, J = 10,5 Hz, H-8), δ 6,29 ppm (1H, s, H-9), δ 3,01 ppm (3H, s, OCH₃-11) (Gambar 2). Data identifikasi isolat aktif *E. bulbosa* identik dengan struktur eleutherol (Gambar 3). Uji potensi antimikroba isolat aktif *E. bulbosa* diperoleh nilai MIC untuk bakteri *V. cholera*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. mutans* adalah 0,0125% dan untuk bakteri *E. coli* adalah 0,025% (Tabel 1), sedangkan uji lanjutan potensi antimikroba diperoleh diameter daya hambat pada konsentrasi 0,1%; 0,05%; 0,025%; 0,0125% untuk semua bakteri kecuali *E. coli* pada konsentrasi 0,1%; 0,05%; 0,025% (Tabel 2).

Penelitian ini menunjukkan bahwa isolat aktif *E. bulbosa* termasuk golongan senyawa naftalen dan memiliki potensi antimikroba terhadap bakteri gram positif dan negatif. Hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa naftalen pada isolat aktif *E. bulbosa*.

Dalam penelitian ini zat aktif yang terkandung dalam *E. bulbosa* diekstraksi menggunakan metode maserasi untuk menarik senyawa polar dan nonpolar. Kemudian dipartisi cair-cair menggunakan n-heksan, etil asetat, dan n-butanol untuk memisahkan senyawa dari ekstrak metanol berdasarkan tingkat kepolaran. Ekstrak n-heksan yang memiliki aktivitas antimikroba paling difraksinasi untuk memperoleh isolat aktif.

Isolat aktif *E. bulbosa* yang diperoleh dikarakterisasi dengan uji kromatogram pereaksi semprot menggunakan pereaksi KOH etanolik. Hasil karakterisasi pereaksi semprot KOH etanolik menunjukkan warna merah setelah pemanasan dengan 110°C selama 15 menit. Hal ini menunjukkan isolat aktif diduga termasuk ke dalam golongan senyawa naphthalene.

Hasil identifikasi spektroskopi FTIR menunjukkan puncak serapan pada panjang gelombang 3439 cm⁻¹ merupakan gugus hidroksil (OH). Pita serapan 2926 dan 2856 cm⁻¹ menunjukkan gugus CH alifatik yang diperkuat dengan puncak serapan 1564 dan 1460 cm⁻¹ yang menunjukkan cincin aromatik. Puncak serapan 1732 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C=O. Gugus C=C menunjukkan puncak serapan didaerah 1651 cm⁻¹. Berdasarkan interpretasi data IR

menunjukkan isolat C4d mengandung gugus OH, CH alifatik, C=O, dan C=C [9].

Hasil Interpretasi data ¹H NMR isolat aktif ditelusuri dengan membandingkan spektra ¹H NMR yang dilaporkan oleh Leyama dkk (2011). Karakteristik spektra ¹H NMR isolat aktif terutama berasal dari proton yang terletak pada cincin aromatik di area δ (*chemical shift*) 6,00 – 7,00 ppm. Data ¹H NMR isolat aktif memperlihatkan adanya spektrum dari atom H-6 yang memiliki 2 proton H tetangga (doblet) terhadap atom H-7 dengan nilai δ 6,92 ppm dan nilai kopling konstan 10,5 Hz, spektrum dari atom H-8 yang memiliki 2 proton H tetangga (doblet) terhadap atom H-7 dengan nilai δ 7,75 ppm dan nilai kopling konstan 10,5 Hz, Spektrum dari atom H-9 singlet dengan nilai δ 6,29 ppm, dan spektrum H-11 singlet dengan nilai δ 3,21 ppm.

Tabel 1. Hasil pengujian Kadar Hambat Minimum (KHM) isolat aktif (C4d) *E. Bulbosa*

Konsentrasi Uji	Bakteri Uji				
	Bs	Vc	Ec	Sm	Sa
1000 ppm	+	+	+	+	+
500 ppm	+	+	+	+	+
250 ppm	+	+	+	+	+
125 ppm	+	+	-	+	+
62,5 ppm	-	-	-	-	-
31,25 ppm	-	-	-	-	-
Kontrol (+)	-	-	-	-	-
Kontrol (-)	+	+	+	+	+

Tabel 2. Hasil uji lanjutan potensi antimikroba isolat aktif C4d *E. bulbosa*

Konsentrasi Uji	Diameter Zona Hambat (mm) terhadap Bakteri Uji				
	Bs	Vc	Ec	Sm	Sa
1000 ppm	14,16	13,28	13,35	20,33	27,23
500 ppm	12,75	12,75	11,25	18,15	25,73
250 ppm	11,30	10,28	9,75	15,73	19,60
125 ppm	9,28	8,27	-	13,20	16,93
Kontrol (+)	17,75	15,88	16,33	22,42	28,83
Kontrol (-)	-	-	-	-	-

Jika melihat hasil interpretasi ^1H NMR isolat aktif terdapat beberapa kesamaan dari spektra ^1H NMR yang dilaporkan oleh Leyama dkk (2011), adanya spektrum yang muncul pada δ 6-7 ppm yang menandakan cincin aromatik, δ 3-5 ppm dengan integral 3H menandakan gugus metoksi (OCH_3). Akan tetapi ada beberapa spektrum multiplet yang muncul pada isolat aktif pada δ 0,91 ppm dan 5,06 ppm. Hasil ini membedakan dengan spektra yang dilaporkan oleh Leyama dkk (2011), ini terjadi kemungkinan disebabkan oleh tingkat kemurnian isolat aktif hanya sekitar 75 % sehingga menyebabkan ketidakstabilan peak yang muncul pada saat pengukuran ^1H NMR [10].

Berdasarkan data ^1H NMR isolat aktif dan dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Leyama dkk (2011), maka kemungkinan rumus struktur isolat aktif *E. bulbosa* adalah eleutherol ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_4$) [10].

Isolat aktif *E. bulbosa* selanjutnya dilakukan pengujian potensi antimikroba dengan metode dilusi cair pada konsentrasi 0,1%; 0,05%; 0,025%; 0,0125% untuk mengetahui kadar hambat minimum (KHM). Metode dilusi cair biasa digunakan dalam pengujian aktivitas antimikroba yang didasarkan pada prinsip pengenceran. Prinsip dari metode ini adalah pengenceran larutan uji sampai diperoleh seri konsentrasi pada masing-masing larutan uji ditambah suspensi bakteri [11]. Hal ini yang akan menyebabkan terjadinya interaksi yang homogen antara larutan uji dengan suspensi bakteri sehingga penghambatan bakteri lebih sensitif. Selain itu, pada metode ini penggunaan media dan bahan uji lebih hemat dan tidak dipengaruhi oleh tebal tipisnya media dan faktor difusibilitas bakteri uji. Hasil pengujian KHM isolat aktif terhadap bakteri *E. coli* terlihat pada konsentrasi 0,025% dan bakteri *B. subtilis*, *V. cholera*, *S. mutans*, *S. aureus* terlihat pada konsentrasi 0,0125%. Hasil pengujian KHM ini

menjadi acuan untuk uji potensi antimikroba selanjutnya.

Uji lanjutan potensi antimikroba isolat aktif *E. bulbosa* menggunakan metode difusi agar padat pada beberapa variasi konsentrasi. Metode ini digunakan karena cukup sederhana dan efektif untuk mengetahui aktivitas antibakteri suatu sampel [11]. Hasil uji lanjutan potensi antimikroba isolat aktif menunjukkan penghambatan hingga konsentrasi 0,0125% untuk bakteri *Bacillus subtilis*, *Vibrio cholera*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*. dan untuk bakteri *Escherichia coli* menunjukkan penghambatan hingga konsentrasi 0,025%.

Berdasarkan hasil pengamatan zona hambat isolat aktif *E. bulbosa*, menunjukkan potensi antimikroba tersebut efektif terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, sehingga dapat dikatakan isolat aktif sebagai senyawa aktif berspektrum luas. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 0,0125% menunjukkan potensi lebih besar pada seluruh bakteri uji. Ibtissam dkk (2009), menjelaskan parameter kekuatan daya antibakteri, daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk aktivitas sangat tinggi, 16-19 mm termasuk aktivitas tinggi, 10-15 mm termasuk kategori sedang, dan daerah kurang dari 10 mm termasuk kategori rendah. Berdasarkan teori tersebut, isolat aktif *E. bulbosa* memiliki aktivitas sedang untuk bakteri gram positif dan aktivitas rendah untuk bakteri gram negative [12].

KESIMPULAN DAN SARAN

Isolat aktif *E. bulbosa* adalah golongan naphthalene dan memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Melihat potensi tersebut, maka diharapkan ke depannya Perlu didukung data MS, ^{13}C NMR, dan NMR dua dimensi sehingga struktur senyawa aktif yang diperoleh dapat diketahui dengan pasti dan dilakukan pengembangan lebih lanjut

kearah formulasi sediaan farmasi khususnya sediaan obat antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Litbang Depkes. (2011). *Tanaman Obat Asli Milik Masyarakat Bangsa dan Negara RI*. <http://www.bmf.litbang.depkes.go.id>.
- [2]. Sa'roni P, Nurendah, Adjirni. (1987). Penelitian efek anti inflamasi beberapa Tanaman obat pada tikus putih. *Konggres Biologi Nasional VIII*. Purwokerto. 8-10 Oktober.
- [3]. Saptowalyono C.A. (2007). *Bawang dayak, tanaman obat kanker yang belum tergarap*. www.kompas.com.
- [4]. Alves T.M.A., Helmut K, Carlos L.Z. (2003). *Eleutherinone a novel fungitoxic naphthoquinone from Eleutherine bulbosa (Iridaceae)*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(5): 709-712.
- [5]. Le Min Ha, P.V. Kiem, C.V. Minh. (2012). Chemical Constituents of the Rhizome of Eleutherine Bulbosa and Their Inhibitory Effect on the Pro-Inflammatory Cytokines Production in Lipopolysaccharide-Stimulated Bone Marrow-Derived Dendritic Cells. *Bull. Korean Chem. Soc.* Vol. 34, No. 2. 633.
- [6]. Budiastomo H. (2010). Tesis: *Pengaruh Pemberian Fraksi Etanolik Ekstrak Bawang Dayak terhadap Tingkat Ekspresi Cyclin – E Galur Sel Kanker Serviks Uteri Hela (Human Papiloma Virus High Risk Type)*. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- [7]. Ifesan B.O., Ibrahim D., and S.P. Voravuthikunchai. (2010). Antimicrobial Activity of Crude Ethanolic Extract from Eleutherine Americana. *Thailand. Journal of Food. agriculture & environment* Vol. 8 (3 & 4) 1233-1236.
- [8]. Kalidass S., Sembian S., Femina W., Febina B.S., Gilbert R.R. (2012). Antagonistic Activity of Eleutherine Palmifolia Linn. Karunya Institute of Technology and Sciences. India. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* S491-S493.
- [9]. Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle D.J. (2005). *Spectrofotometric Identification of Organik Compounds*. Seventh Edition. State University of New York. Hal. 83 – 87.
- [10]. Leyama T., Maria D.P.T., Jun K. (2011). α Glucosidase Inhibitors From the Bulb Of Eleutherine Americana. Japan. *Journal of Food Chemistry* 128 (2011) 308 – 311.
- [11]. Jawertz M. & Aldelberg's A. (2001). *Mikrobiologi Kedokteran*. Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.
- [12]. Ibtissam C., Hassane R., Jose M.L., Fransisco D.S.J., Antonio G.V.J., Hassan B., dkk. (2009). Screening of Antibacterial Activity in Marine Green and Brown Macroalgae from the Coast of Marocco. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 8 (7): 1258 – 1262.