AKTIVITAS ANTI MIKROBA DARI EKSTRAK BAWANG TIWAI (*Eleutherine americana* L.Merr)

Suroto Hadi Saputra ¹⁾
Irawan Wijaya Kusuma ²⁾

ABSTRACT

Bawang tiwai (*Eleutherine americana* L. Merr) has chemical compound such as carbohydrate, protein, fat, alkaloid, flavonoid, carbocylate acid, aldehyde-keton, thanin and phenol. Bawang tiwai is used by the ethnic of Dayak in Eas Kalimantan for spicy and medicine. Information about this chemical compound should be studied further and one of the study is to know the characteristic and activity of bawang tiwai as antimicrobial activity. The extract of bawang tiwai using methanol solvent has characteristic of brown concentrated solid (gummy), non crystalin, non aromatic and the extract of bawang tiwai using the solvent of n-hexana, dietil ether and etil acetate has a characteristic of yellow brownies solid, bit oil, and both extractives are dissolved in acetone and methanol. Repeated separation with hexan, etil acetate, benzene-acetone using a coloum chromatography resulted in old yellow to brown fraction and aromatic. The fractions resulted by step one and two separation are able to resist the growth of salmonella thypi and *Bacillus cereus*..

Key words : antimicrobial, bawang tiwai, extraction, fracsination.

PENDAHULUAN

Sejak lama manusia telah dihadapkan pada masalah kesukaran atau penurunan mutu bahan pangan terutama bahan pangan yang memiliki kandungan air dan nutrisi tinggi. Memperhatikan permasalahan yang dihadapi tersebut, dengan penambahan bahan pengawet. Pengawet makanan yang digunakan berfungsi mencegah atau mengurangi kerusakan kimiawi dan biologi pangan. Pengawet untuk mencegah kerusakan biologi yang disebabkan oleh mikroba disebut antimikroba.

Hingga saat ini bahan pengawet yang digunakan untuk mengawetkan makanan masih banyak menggunakan pengawet sentetis. Borak dan formalin bukan pengawet untuk makanan sehingga dilarang digunakan sebagai pengawet makanan. Dengan pertimbangan kesehatan, konsumen cenderung menghendaki penggunaan bahan-bahan alami makanan seperti penggunaan bahan pengawet, pewarna, flavour dan aditif lainnya. Penelitian-penelitian tentang aktivitas antimikroba telah banyak dilakukan terutama terhadap berbagai jenis tanaman rempah-rempah. Rempah-rempah dan beberapa jenis tanaman mempunyai aktivitas antimikroba dan secara tradisional banyak yang digunakan untuk pengobatan.

Beberapa penelitian mengenai aktivitas antimikroba dari tanaman, baik dalam bentuk ekstrak, minyak atsiri dan bahan aktif menunjukkan bahwa banyak tanaman yang mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen dan jamur penyebab kerusakan bahan pangan. Beberapa diantaranya adalah daun sereh, daun salam, daun poh-pohan, daun cariang (Nuraida dan Hariyadi, R.D, 2001), daun kemangi (Wan, dkk, 1998) dan daun Sirih (Sukaminah, 1997), daun Beluntas (Ardiansyah, Nuraida, L dan Andarwulan, N, 2003), daun salam dan daun pandan (Murhadi, dkk, 2007) dan daun sirih hijau (Suliantari, dkk, 2008).

Usaha untuk mencari sumber antimikroba baru, terutama tanaman asli yang terdapat di

¹⁾) Peneliti Baristand Industri Samarinda
²⁾) Fakultas Kehutanan Univ. Mulawarman Samarinda

Indonesia terus dilakukan. Tumbuhan yang digunakan secara tradisional dapat dijadikan sebuah alternatif pencarian senyawa antimikroba, karena pada umumnya memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai senyawa antimikroba.

Bawang tiwai merupakan tanaman Kalimantan yang tumbuh di dataran 2000 s.d 6000 m di atas permukaan laut (dpl), dimana tanaman tersebut terdiri dari akar, umbi, daun dan bunga. Warna umbi bawang tiwai adalah merah, yang memiliki kandungan kimia karbohidrat, protein, lemak, alkaloid, flavonoid, asam karboksilat, aldehid-keton, tanin dan fenol (Saputra, H.S. dan Sampepana, E.2007). Komponen senyawa kimia alkaloid, flavonoid dan fenol mempunyai peran sebagai antimikroba (pengawet) dan antioksidan pangan (Saputra, 2007).

BAHAN DAN METODA

Bahan dan alat

Tumbuhan bawang tiwai diperoleh dari pedagang rempah-rempah, pada tahun 2008. Umbi bawang tiwai diiris tipis, dikeringudarkan dan dihaluskan dengan blender untuk memperoleh sampel serbuk untuk proses ekstraksi.

Bahan kimia yang digunakan meliputi metanol, etil asetat, silika gel, benzena, aseton, etanol, dietil eter, etil asetat, *n*-heksana, natrium sulfat, kloroform, mikroba *Salmonella thypi*, dan *Bacillus cereus*. Alat yang digunakan antara lain tabung reaksi, blender, alat ekstraksi (soxlet), cawan penguat, rotary vacum evaporator, gelas piala, pipet volumetrik, oven, desikator, neraca analitik, erlenmeyer, pipet tetes, statif, corong, pemisah, spray, shaker, pisau, hot plate, reflux, spektrofotometer, unit destilasi, buret, botol ekstraksi, digester, lemari pendingin, buchner dan Petri dish.

Kultur bakteri uji. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella thypi* dan *Bacillus cereus* yang berasal dari Laboratorium Kesehatan Daerah, Samarinda, Kalimantan Timur. Dipilihnya mikroba *S.thypi* dan *B. cereus* karena kedua bakteri ini merupakan jenis bakteri patogen pada pangan (Michael J. Pelczar dan E.C.S. Chan, Terjemahan Hardioetomo, S.R., dkk, 1988). Kultur bakteri ditumbuhkan di Petri dish dan tabung reaksi yang berisi *media nutrien agar* pada kondisi suhu kamar tanpa cahaya. Kultur yang berumur 7-10 hari pada tabung reaksi (agar miring) dilarutkan dengan 5 ml larutan saline dan dilakukan pengerukan permukaan media secara lembut. Larutan suspensi selanjutnya diukur pada kerapatan 10^6 kultur/ml yang diukur dengan menggunakan transmitansi pada spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 254 dan 365 nm.

METODA

1. Ekstraksi dan Isolasi

Ekstraksi dan fraksinasi. Serbuk bawang tiwai (1 kg) diekstrak dengan metanol selama 48 jam pada suhu kamar dengan 3 kali pengulangan. Larutan ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring (Whatman no. 42) dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak hasil pemekatan dikeringkan dalam pengering vakum pada suhu kamar untuk menghasilkan 91 g ekstrak metanol. Sebagian ekstrak metanol (45 g) difraksinasi cair-cair dengan pelarut *n*-heksana, dietil eter dan etil asetat untuk menghasilkan fraksi terlarut *n*-heksana (11 g), dietil eter (16 g), etil asetat (1 g) dan residu (14 g). Masing-masing fraksi terlarut diuji aktivitas penghambatannya terhadap mikroba pencemar pangan dengan metode *airborne-microorganism*.

Uji antibakteri. Pengujian dilakukan dengan metode difusi agar dengan keping kertas. Pada metode difusi agar, pada permukaan media nutrien agar yang telah diinokulasi dengan 100 µL suspensi bakteri, diletakkan keping kertas (? 7 mm) yang telah ditetesi fraksi-fraksi ekstrak atau fraksi bawang tiwai (1 mg/keping). Sebagai kontrol positif digunakan teramycin (10 ug/keping) dan kontrol negatif (aseton). Inkubasi dilakukan selama 48 jam dan aktivitas anti bakteri dihitung berdasarkan perbandingan diameter zona bening (mm) pada keping yang berisi ekstrak dan zona bening pada keping kontrol positif (teramycin) yang dinyatakan dalam persen.

Isolasi senyawa aktif dipandu uji hayati. Fraksi *n*-heksana dari ekstrak metanol merupakan fraksi dengan aktivitas anti bakteri terkuat dibandingkan fraksi terlarut lainnya, sehingga fraksi tersebut dipilih untuk dikaji lebih lanjut. Pemisahan fraksi *n*-heksana 3 (g) dengan metode kromatografi kolom pada silika gel memberikan 10 fraksi besar (D.1-D.10) hasil penggabungan berdasarkan kesamaan profil pada analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Salah satu fraksi dengan aktivitas anti bakteri terbaik, D6 (1 g), dipisahkan kembali dengan kromatografi kolom secara

Berulang dengan menggunakan pelarut *n*-heksana-etil asetat dan benzena-aseton melalui sistem gradien. Fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom dipandu dengan uji bakteri terhadap *S. thypi* dan *B. cereus* untuk menentukan fraksi paling aktif yang akan menjadi target isolasi bahan aktif. Pemisahan kromatografi kolom pada fraksi D.6 dan purifikasi dengan kristalisasi secara berulang dari aseton dan etanol memberikan satu senyawa aktif anti bakteri, senyawa 1 (60 mg).

2. Bioassay aktivitas anti jamur-bakteri

1. Metode *air-borne microorganism*

Potato Dextrosa Agar (PDA) steril (20 ml) dan ekstrak (setara dengan 2 g sampel) dalam aseton dicampur dan dituang pada Petri dish 15 x 90 mm. Petri dish kontrol hanya menggunakan aseton. Selanjutnya media diletakkan pada tempat terbuka agar terkontaminasi oleh jamur dan bakteri dari udara selama 1 jam kemudian. Inkubasi dilakukan pada suhu ruangan selama 7 hari. Aktivitas anti jamur dan bakteri kontaminan dievaluasi berdasarkan kenampakan keragaman mikroorganisme (*diversity appearance*).

2. Metode difusi agar

Permukaan media agar (*nutrient agar*) untuk bakteri, diinokulasi dengan suspensi bakteri *S. thypi* dan *B. cereus* dengan konsentrasi yang diketahui. Selanjutnya *lempeng selulosa* yang mengandung ekstrak atau pun tidak (kontrol) diletakkan pada permukaan media. *Teramycin* digunakan sebagai kontrol positif. Inkubasi dilakukan selama 24-48 jam pada kondisi gelap dan suhu ruang. Diameter zona hambat pada Petri dish berisi ekstrak diukur dalam milimeter dan dibandingkan dengan zona hambat pada kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian aktivitas antimikroba pencemar dari fraksi-fraksi terlarut *n*-heksana, dietil eter dan etil asetat dengan metode agar *dilution assay air-borne microorganism* menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana dan dietil eter memiliki penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan fraksi lainnya (fraksi etil asetat). Sebagaimana pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian aktivitas antimikroba pencemar metode dilusi *air-borne microorganism*

Fraksi	Jumlah jamur kontaminan	Waktu kontaminasi
<i>n</i> -heksana	2 jamur pencemar	Sejak hari ke 3
dietil eter	2 jamur pencemar	Sejak hari ke 3
etil asetat	6 jamur pencemar	Sejak hari ke 2

Fraksi *n*-heksana dan dietil eter memberikan penghambatan lebih baik dibandingkan dengan fraksi etil asetat, hal ini diduga bahwa pada fraksi etil asetat komponen aktif ekstrak bawang tiwai belum banyak yang terlarut sehingga mudah terkontaminasi oleh jamur pencemar. Menurut Moyler (1995) pelarut organik digunakan dalam ekstraksi komponen-komponen bioaktif dari tanaman merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan-tujuan dan sasaran ekstraksi komponen.

Setelah melalui pemisahan kromatografi kolom, senyawa 1 berhasil dipurifikasi dari fraksi D.6.3.5 sebagai kristal jarum kuning pucat melalui kristalisasi dari aseton dan etanol secara berulang. Adanya indikasi warna kuning tua hingga coklat tua dan dikristalisasi berwarna kuning pucat diduga bahwa bahan aktif tersebut masuk dalam kelompok senyawa fenol. Senyawa fenolik tanaman yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri diantaranya turunan *p*-benzokuinon seperti 2,3-dimetoksi-5-metil-*p*-benzokuinon; 2,6-difenil-*p*-benzokuinon dan 2,6-dimetoksi-*p*-benzokuinon (Nishino dkk, 1986), senyawa fenolipropena seperti anetol (Taniguchi dkk, 1978), glikol dan resol (Van Chuyen dkk, 1982). Senyawa ini menunjukkan reaksi positif dengan penambahan 2,4 dinitrofel hidrazin yang mengindikasikan kehadiran gugus karbonil keton atau aldehida. Identifikasi detail struktur senyawa melalui interpretasi data spektroskopi massa dan resonansi magnet inti saat ini masih berjalan.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari senyawa 1 menunjukkan bahwa pada beberapa tingkatan konsentrasi yang diujikan (40-80 µg/keping), bahwa senyawa 1 yang menunjukkan aktivitas

antibakteri dengan indikasi terlihatnya zona bening disekitar keping kertas. Pada konsentrasi minimum (40 µg), senyawa 1 telah mampu memberikan penghambatan terhadap pertumbuhan *S. thypi* dan *B. cereus*. Lebih lanjut, perbandingan terhadap bahan antibakteri komersial (teramycin) pada konsentrasi 10 µg/keping, menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada keping yang berisi teramycin sebesar 15-17 mm, sedangkan pada keping yang berisi senyawa 1 pada konsentrasi 40,60 dan 80 µg/keping masing-masing sebesar 12-19 mm, sebagaimana pada Tabel 2. Berdasarkan hasil tersebut, aktivitas antibakteri dari senyawa aktif bawang tiwai relatif berada pada kisaran yang sama dengan kontrol positif yang digunakan meskipun dengan pemberian konsentrasi yang lebih tinggi. Namun demikian, resiko keamanan penggunaan dari senyawa alami bawang tiwai diharapkan akan lebih rendah dibandingkan antibakteri komersial yang saat ini beredar.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri dari senyawa aktif bawang tiwai

Test Microorganism	Diameter penghambatan (mm)			Teramycin (mm)
	40 µg	60 µg	80 µg	10 µg (mm)
<i>S. thypi</i>	12 ± 0,02	15 ± 0,02	19 ± 0,04	15 ± 0,07
<i>B. cereus</i>	14 ± 0,05	16 ± 0,04	17 ± 0,07	17 ± 0,05

Keterangan : Nilai pengujian merupakan rata-rata 3 ulangan pengujian ± Standard Error Mean (SEM).

KESIMPULAN

Karakteristik ekstrak bawang tiwai dengan metanol menghasilkan padatan coklat pekat (gummy), non kristalin, non aromatik, sedangkan dengan pelarut *n*-heksana, dietil eter dan etil asetat menghasilkan padatan berwarna kuning kecoklatan, sedikit berminyak dan terlarut baik dengan aseton dan metanol. Pemisahan kromatografi kolom secara berulang dengan pelarut *n*-heksana-etil aseton, benzene-aseton berwarna kuning tua hingga coklat, bersifat aromatik. Fraksi *n*-heksana dan dietil eter menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap organisme pencemar. Pada fraksi tahap satu maupun tahap dua (etil asetat) mampu menghambat *Salmonella thypi* dan *Bacillus cereus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiansyah, Nuraida, L. dan Andarwulan, N. 2003. Aktivitas antibakteri ekstrak daun beluntas (*Plucea indica* L) dan Stabilitas Aktivitasnya pada berbagai konsentrasi garam dan tingkat pH. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Volume XIV Nomor 2 halaman 90 s.d 95. Perhimpunan Teknologi Pangan (PATPI). Bogor.
- Michael J. Pelczar dan E.C.S. Chan, Terjemahan Hardioetomo, S.R., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., Angka, L.S., 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Murhadi, Suharyono, AS., dan Susilawati. 2007. Aktivitas antibakteri ekstrak daun salam dan daun pandan. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Volume XVIII Nomor 1 halaman 17 s.d 23. Perhimpunan Teknologi Pangan (PATPI). Bogor
- Moyler, D.A. 1995. Oleoresins, Tinctures and extracts. Dalam Ashurst. P.R. (Ed). Food Flavorings. Blackie Academic & Profesional. New York.
- Nishino, C., Enskin., Sato. S., Oya. J. Jpn. Kokai Tokyo Koho SP. 1986; 61, 137, 818 (86, 137, 818) Chem. Abs. 105. 18395y.
- Nuraida, L. dan Hariyadi, R.D. 2001. Sifat antimikroba beberapa tanaman indegenus terhadap bakteri patogen dan pembusuk serta kapang. Proseding Seminar Nasional Pangan Tradisional Basis Industri Pangan Fungsional dan Suplemen. Institut Pertanian Bogor Pusat kajian Makanan Tradisional. Bogor.
- Saputra, H.S., dan Sampepana E, 2007. Analisa Kandungan Kimia dan Pemanfaatan Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* L. Merr) untuk Bahan Baku Industri. Jurnal Riset Teknologi Industri Vol.1 No.1 Juni 2007. Balai Riset dan Standardisasi Industri. Samarinda.
- Saputra, H.S., 2007. Analisa Bioaktif dan Pemanfaatan Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* L. Merr) untuk Bahan Tambahan Pangan. Jurnal Riset Teknologi Industri Vol.1 No.1 Desember 2007. Balai Riset dan Standardisasi Industri. Samarinda.

- Sukarminah, E. 1997. Kajian sifat antimikroba ekstrak daun sirih (*Piper battle* L.) terhadap pertumbuhan mikroba perusak dan patogen makanan (Tesis). Institut Pertanian Bogor Program Pascasarjana. Bogor.
- Suliantari, Jenie, B.S.L., Suhartono dan Apriyantono, A., 2008. Aktivitas antimikroba ekstrak sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri patogen pangan. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Volume XIX Nomor 1 halaman 1 s.d 6. Perhimpunan Teknologi Pangan (PATPI). Bogor
- Taniguchi, M., Cha A., Kubo, I. And Nakainshi, K. 1978. Screening of East African plants for antimicrobial activity. Chem. Pharm. Bull. 26:2910-2913.
- Wan, J., Wilcock, A., and Coventry, M.J. 1998. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorencens*. J Appl Microbiol 84:152-158.
- Van-Chuyen, N., Kurata, T., Kata, H. And Fujimaki, M. 1982. Antimicrobial Activity of Kumazaza (*Sasa albomanginata*). J. Agric. Biol. Chem. 46(4):971-978.