



Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku *diantum capillus-veneris* dan *Asplenium nidus* Terhadap Bakteri Gram Negatif *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Agar

Febby Ester Fany Kandou^a, Dingse Pandiangan^{a*}

^aJurusan Biologi, FMIPA, Unsrat, Manado

KATA KUNCI

Aktivitas antibakteri
Escherichia coli
 Methanol
Adiantum capillus-veneris
Asplenium nidus

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak metanol tumbuhan paku *Adiantum capillus-veneris* dan *Asplenium nidus* terhadap pertumbuhan bakteri Gram negatif *Escherichia coli*. Pengujian aktivitas ekstrak menggunakan Metode Difusi Agar (tes Kirby Bauer), yaitu metode difusi dengan kertas cakram untuk menentukan aktivitas antimikroba. Hasil penelitian diperoleh ekstrak metanol *Adiantum capillus-veneris* memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi ekstrak 30%, 60% dan 90% dengan diameter zona hambat berturut-turut 0,00 mm, 0,00 mm dan 6,80 mm. Ekstrak *Asplenium nidus* menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 30%, 60% dan 90% dengan diameter zona hambat berturut-turut 3,60 mm, 7,20 mm dan 12,50 mm. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Adiantum capillus-veneris* pada konsentrasi 90% menghambat *Escherichia coli* pada kategori sedang. Ekstrak *Asplenium nidus* tergolong dalam kategori sedang dan kuat dalam menghambat bakteri Gram negatif *Escherichia coli* sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan dasar antibakteri.

KEY WORDS

Antibacterial activity
Escherichia coli
 Methanol
adiantum capillus-veneris
Asplenium nidus,

ABSTRACT

The aim of this research to test the methanol extract activity of *Adiantum capillus-veneris* and *Asplenium nidus* on the growth of Gram negative bacteria *Escherichia coli*. Testing activity of the extracts to bacterial using the Kirby-Bauer method, is the paper disk diffusion method. The results are *Adiantum capillus-veneris* extract inhibit the growth of *E. coli* at concentrations of extract 30%, 60% and 90% with inhibition zone diameter respectively 0.00 mm, 0.00 mm and 6.80 mm; and *Asplenium nidus* extract inhibit the growth of *E. coli* with inhibition zone diameter respectively 3.60 mm, 7.20 mm and 12.50 mm. Based on the results obtained that the extract of *Adiantum capillus-veneris* classified in medium category and *Asplenium nidus* extract in medium and strong category activity toward Gram negative bacteria *Escherichia coli*, so that has potential as a base material antibacterial.

TERSEDIA ONLINE

01 Februari 2018

1. Pendahuluan

Tumbuhan paku memiliki keanekaragaman hayati yang cukup tinggi mencapai ±10.000 jenis dan diperkirakan sekitar 3.000 jenis tersebar di wilayah Indonesia(Seno et al. 2012). Secara tradisional, tumbuhan paku digunakan masyarakat

sebagai obat antibakteri, obat malaria, pencahar, obat penghenti pendarahan, obat pasca persalinan, obat penyakit kulit dan antiradang (Arini dan Kinoh, 2012). Ibraheim et al. (2011) melaporkan *Adiantum capillus-veneris* dimanfaatkan sebagai obat batuk, gangguan pernafasan, penyakit kulit, antipiretik, diuretik, antiinflamasi, antioksidan dan

*Corresponding author; Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT, Jl. Kampus Unsrat, Manado, Indonesia 95115 Email address: febbykandou@unsrat.ac.id

Published by FMIPA UNSRAT (2018)

sebagai stimulan. Sedangkan *Asplenium* bermanfaat sebagai antioksidan (Ondo et al. 2013).

Khoiri (2009) menyatakan bahwa metabolit sekunder pada tumbuhan paku adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Pan et al. (2011) melaporkan bahwa genus *Adiantum* memiliki senyawa triterpenoid, flavonoid dan steroid. Tumbuhan paku *A. capillus-veneris* memiliki senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid dan *Shikimic acids* (Ibraheim et al. 2011). *Asplenium* sp. memiliki senyawa tanin, alkaloid, triterpenoid dan flavonoid (Ondo et al. 2013).

Bakteri Gram negatif bersifat patogen lebih berbahaya dari bakteri Gram positif, karena pada struktur dinding selnya lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida, dan lapisan dalam peptidoglikan. Lapisan ini melindungi bakteri dan menghalangi masuknya obat-obatan antibiotik, salah satu contoh bakteri Gram negatif yaitu *Escherichia coli*. Bakteri ini biasanya terdapat pada saluran pencernaan hewan dan manusia, dan menyebabkan penyakit di saluran pencernaan dan saluran kemih. Penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* antara lain diare, sepsis dan meningitis (Brookset al. 2005).

Pemanfaatan tumbuhan paku *Adiantumcapillus-veneris* dan *Aspleniumnidus* yang tumbuh di Sulawesi Utara sebagai antibakteri belum dilaporkan. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian aktivitas ekstrak *Adiantumcapillus-veneris* dan *Aspleniumnidus* terhadap pertumbuhan bakteri sebagai usaha pengembangan tumbuhan yang berpotensi sebagai obat serta menemukan sumber antibakteri baru yang berasal dari tumbuhan paku-paku.

Tujuan penelitian menguji aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Adiantumcapillus-veneris* dan *Asplenium nidus* terhadap pertumbuhan bakteri Gram negatif *Escherichia coli*.

2. Material dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unsrat Manado dan pengambilan sampel di Kecamatan Langowan Kabupaten Minahasa

Alat dan bahan yang digunakan laminar air flow, autoklaf, timbangan digital, inkubator, evaporator, blender, alat gelas, hot plate, jarum inokulasi lurus, mortar dan pestle, lemari pendingin, kertas saring, pinset, cakram kertas dengan diameter 5 mm, jangka sorong dan kamera. Daun *Adiantum capillus-veneris* dan *Asplenium nidus*, biakan murni bakteri *Escherichia coli*, medium Nutrient Agar (NA), medium Nutrient Broth (NB), akuades, metanol, Ampicillin dan antiseptik.

Penyiapan Sampel

Sebelum dilakukan maserasi, sampel tumbuhan *Adiantum capillus-veneris* dan *Asplenium nidus* diidentifikasi menggunakan buku de Winter dan Amoroso (2003). Selanjutnya, daun tumbuhan paku dibilas hingga bersih, dikeringangkan, ditimbang sebanyak 50 gram, kemudian dipotong

kecil dan dihaluskan. Sampel tumbuhan paku yang telah halus direndam dengan metanol selama 3x24 jam, setelah itu ekstrak disaring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat dievaporasi sampai diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat diuapkan kembali dengan meletakkannya di wadah terbuka sehingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering yang diperoleh dilarutkan dengan akuades sampai konsentrasi menjadi 30%, 60% dan 90%. Larutan antibiotik yaitu Ampicillin dibuat dengan cara 10 mg Ampicillin dilarutkan dalam 10 ml akuades (Oroh, et al. 2015).

Pembuatan Medium dan Pembiakan Bakteri

Medium yang digunakan adalah Nutrient Broth dan Nutrient Agar, dibuat disesuaikan dengan kebutuhan. Medium NB 1,95 gram dilarutkan ke dalam 150 ml akuades, sedangkan medium NA 10 gram dilarutkan ke dalam 500 ml akuades, dipanaskan hingga homogen, sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 120°C selama 15 menit. Setelah itu medium NB dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan medium NA kedalam cawan petri dantabung reaksi (agar miring).

Pembiakan bakteri dilakukan menurut prosedur Cappuccino (2013) yang sudah dimodifikasi. Biakan murni bakteri *Escherichia coli* diinokulasi secara aseptik ke dalam tabung reaksi yang berisi medium miring NA steril masing-masing tiga buah tabung reaksi, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah itu diinokulasi kembali dari medium NA ke medium NB lalu diinkubasikan selama 24 jam. Larutan antibiotik Ampicillin dibuat dengan cara 10 mg Ampicillin dilarutkan dalam 10 ml akuades.

Uji Daya Hambat Ekstrak Terhadap Bakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar (tes Kirby-Bauer), yaitu metode difusi dengan cakram kertas pada beberapa konsentrasi ekstrak yaitu 30%, 60% dan 90% dan larutan antibiotik sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona bening yang berada di sekitar cakram kertas, diameter zona bening yang mengelilingi cakram kertas merupakan ukuran kekuatan hambatan agen mikroba terhadap bakteri uji. Kekuatan hambatan antibakteri dapat dikategorikan sesuai ketentuan dari Davis dan Stout, 1999. Diameter zona daya hambat ekstrak tumbuhan paku disajikan dalam tabel

3. Hasil dan Pembahasan

Rata-rata diameter zona hambat ekstrak *Adiantumcapillus-veneris* dan *Aspleniumnidus* terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 1

Hasil pengujian aktivitas ekstrak metanol daun *Adiantumcapillus-veneris* (Tabel 1) pada konsentrasi 30% dan 60% tidak terbentuk zona bening di sekitar cakram kertas, pada kedua konsentrasi ini belum mampu mengganggu metabolisme bakteri uji. Pada konsentrasi 90% ekstrak metanol *A. capillus-veneris* menunjukkan daya hambatnya dengan kategori

sedang (6,80 mm). *Adiantum* mengandung flavonoid, triterpenoid, steroid (Pan, et al. 2011), *Shikimic acids* (Ibraheim et al., 2011) dan alkaloid (Djoronga, et al. 2014) merupakan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri.

Tabel 1. Diameter rata-rata zona hambat ekstrak *Adiantum capillus-veneris* dan *Asplenium nidus* terhadap bakteri *Escherichia coli*

Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori (Davis dan Stout, 1999)
<i>Adiantumca pillus- veneris</i>	30	0.00 ± 0.00	—
	60	0.00 ± 0.00	—
	90	6.80 ± 0.77	Sedang
<i>Aspleniumni dus</i>	30	3.60 ± 0.24	Lemah
	60	7.20 ± 0.53	Sedang
	90	12.50 ± 0.56	Kuat
Kontrol positif (Ampicillin)		49,00	
Kontrol negatif		0,00	

Pengujian aktivitas ekstrak *Aspleniumnidus* pada konsentrasi 30% memiliki kekuatan antibakteri kategori lemah (3,60 mm), konsentrasi 60% termasuk kategori sedang (7,20 mm) dan konsentrasi 90% termasuk kategori kuat (12,50 mm) dapat dilihat pada Tabel 1, hal ini menandakan bahwa ekstrak memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Menurut Rachmaniar (1997), faktor yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat adalah aktivitas zat antimikroba gugus fungsi dari substansi sendiri, resistensi dari bakteri terhadap sustansi zat antimikroba, kadar substansi aktif serta jumlah inokulum bakteri atau kepadatan bakteri uji. *Asplenium* mengandung senyawa metabolit flavonoid, alkaloid, triterpenoid (Ondoet al., 2013; Djoronga, et al., 2014) yang berpotensi sebagai antibakteri.

Menurut Sawitti et al. 2013, besar kecilnya zona hambat yang terbentuk dapat pula dipengaruhi oleh mutu ekstrak daun. Mutu ekstrak dipengaruhi oleh faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi meliputi spesies tanaman, lokasi tanaman asal, waktu pemanenan, penyimpanan bahan baku, umur serta bagian tanaman yang digunakan.

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak *Asplenium nidus* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri Gram negatif dengan melihat aktivitas penghambatannya pada beberapa konsentrasi yang berbeda. Diduga bahwa aktivitas dari ekstrak *Asplenium nidus* sudah dapat merusak struktur dinding sel dari bakteri Gram negatif yang terdiri dari tiga lapisan yaitu lipoprotein, lipopolisakarida, dan peptidoglikan. Lapisan dinding sel ini berfungsi untuk melindungi bakteri dan menghalangi masuknya obat-obatan antibiotik.

4. Kesimpulan

Ekstrak metanol *Adiantumcapillus-veneris* pada konsentrasi 90% memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang. Ekstrak *Asplenium nidus* pada

konsentrasi 30% memiliki aktivitas antibakteri kategori lemah, konsentrasi 60% termasuk kategori sedang dan konsentrasi 90% termasuk kategori kuat dalam menghambat bakteri Gram negatif *Escherichia coli*.

Daftar Pustaka

- Arini D.I.D. dan Kinho J. 2012. Keragaman Jenis Tumbuhan Paku (Pteridophyta) Di Cagar Alam Gunung Ambang Sulawesi Utara. *Balai Penelitian Kehutanan Manado* 2 (1) 17-39.
- Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. 2005. Jawetz, Melnick dan Adelbergh's : Mikrobiologi Kedokteran. Jilid 1. Jakarta. Salemba Medika.
- Cappuccino J.G. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta. EGC.
- de Winter W.P. dan Amoroso V.B. 2003. *Plant Resources of South-East Asia no.15(2) Cryptogams : Ferns and Fern Allies*. Bogor. PROSEA Foundation Bogor.
- Davis W.W. dan Stout T.R. 1999. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 659-665.
- Djoronga, M.I., Pandiangan, D., Kandou, F.E.F., Tangapo, A.M. 2014. Penapisan Alkaloid pada Tumbuhan Paku dari Halmahera Utara. *Jurnal Mipa Unsrat Online* 3(2) 102-107
- Harborne J.B. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung. Institut Teknologi Bandung.
- Ibraheim Z.Z., Ahmed A.S., Gouda Y.G. 2011. Phytochemical and Biological Studies of *Adiantum capillus-veneris* L. Saudi *Pharmaceutical Journal*. 19. 65-74.
- Khoiri M. 2009. Aktivitas Anti Tumor Ekstrak Etanol *Selaginella* Pada Sel Tumor Kelenjar Mamari Mencit (*Mus musculus*) C3H [Tesis]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Ondo J.P., Louis C.O., Timoleon A.B., Gontran E., Jacques L. 2013. Phytochemical Screening, Total Phenolic Content and Antiradical Activity Of *Asplenium africanum* (Aspleniaceae) and Fruit Of *Megaphrinium macrostachyum* (Marantaceae). *Journal Of Applied Pharmaceutical Science*. 3 (08). 92-96.
- Oroh, S.B., Kandou, F.E.F., Pelealu, J., Pandiangan, D. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol *Selaginella delicatula* dan *Diplazium dilatatum* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Sains* 15(1).
- Pan C., Y.G. Chen, X.Y. Ma, J.H. Jiang, F. He, Y. Zhang. 2011. Phytochemical Constituents And Pharmacological Activities Of Plants From The Genus *Adiantum* : A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 10 (5). 681-692.
- Pelczar M.J dan E.C.S Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Jakarta. UI Press.
- Piggott, A.G. dan Piggott, C.J. 1988. *Fern of Malaysia in Colour*. Kuala Lumpur. Tropical Press SDN. BHD. Malaysia.
- Rachmaniar, R. 1997. Potensi Spons Asal Kepulauan Spermonde sebagai Antimikroba.

- Seminar Perikanan Indonesia II. Ujung Pandang
2-3 Desember 1997
- Sawitti M.Y., Mahatmi H dan Besung I.N.K. 2013.
Daya Hambat Perasan Daun Sambiloto
terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.
Indonesia Medicus Veterinus 2(2): 142-150
- Seno, A.A., Setyantoro, V dan Utami, B. 2012. Profil
Karakteristik Bentuk Sorus Tumbuhan Paku di
Kawasan Wisata Air Terjun Ironggolo Kabupaten
Kediri. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Nusantara PGRI Kediri 9(01): 460-
467