

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lumut *Octoblepharum albidium* Hedw terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Wiwid Widyana¹, Siti Khotimah¹, Irwan Lovadi¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
email korespondensi : wi2d_widyana @yahoo.co.id

Abstract

Mosses are non-vascular plants groups and grow in a wide range of substrates. Mosses contain secondary metabolites that have antibacterial activity. This research aimed to determine the antibacterial activity of *Octoblepharum albidium* extract on the growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. This research was performed in June until July 2013. The Qualitative phytochemical tests showed that *O. albidium* contains secondary metabolites such as alkaloids, polyphenols, flavonoids, saponins and terpenoids. The existence of secondary metabolites in *O. albidium*, could be utilized to inhibit the growth of bacteria *S. epidermidis* and *P. aeruginosa*. The testing of antibacterial activity has been performed using paper disk diffusion method with a concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, 100% and a positive control of chloramphenicol 2.5% (g/ml). The antibacterial activity test result showed that all level of extract concentrations were able to inhibit the growth of bacteria that was characterized by the formation of inhibition zone around the paper disc. The activity of 100% extract concentration againts *S.epidermidis* and *P. aeruginosa* bacteria demonstrated the highest inhibition zone diameter, which was 15.62 mm and 13.23 mm, while the most effective extract concentrations in inhibiting *S. epidermidis* and *P.aeruginosa* are 60% and 80%, respectively.

Keywords : Antibacterial, *O. albidium*, methanol extract, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*

PENDAHULUAN

Lumut merupakan kelompok tumbuhan yang tumbuh pada substrat berupa pohon, kayu mati, kayu lapuk, daun, tanah dan batuan dengan kondisi lingkungan yang lembap serta penyiangan yang cukup. Krisnayana *et al.*, (2010) menyebutkan lumut mengandung senyawa aktif metabolit sekunder. Senyawa ini diketahui dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri, antifungi, antioksidan, antitumor dan antikanker. Kemampuan antibakteri pada lumut ditentukan oleh keberadaan senyawa bioaktif yang ada di dalamnya seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin dan terpenoid (Fadhilah, 2010). Lumut *O. albidium* merupakan salah satu jenis lumut daun yang sejauh ini belum pernah diketahui aktivitas antibakterinya.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa*. Kedua jenis bakteri ini merupakan bakteri yang memiliki struktur dinding sel yang berbeda sehingga

memiliki kemampuan aktivitas yang berbeda. Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari lumut daun *O. albidium* terhadap bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Tujuan dari penelitian ini untuk melihat aktivitas antibakteri dari ekstrak *O. albidium* serta untuk mengetahui konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 2 bulan dari bulan Juni hingga Juli 2013 di Laboratorium Biologi dan Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak.

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah alkohol 70%, akuades, metanol pro analysis

(p.a), media Nutrien agar (NA), bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa*, FeCl_3 , H_2SO_4 , HCL pekat, kloramfenikol, klorofom, pereaksi Wagner, Lumut *O. albidium*, media Nutrien Broth (NB), NaOH, pelarut dimetil sulfoksida (DMSO), pereaksi Lieberman- Bucchard dan spirtus.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan ekstrak *O. albidium* dengan 5 taraf konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% b/v (mg/ml). Kontrol positif menggunakan kloramfenikol sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades dan pelarut DMSO 10%. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali.

Prosedur Kerja

Preparasi sampel lumut *O. albidium*

Sampel lumut yang diperoleh disortir terlebih dahulu dan jika ditemukan koloni yang bukan lumut daun *O. albidium* maka tidak akan diikutsertakan dalam proses ekstraksi. Lumut *O. albidium* kemudian dicuci dengan air yang mengalir lalu dikeringanginkan dalam ruangan selama 11 hari tanpa terkena sinar matahari secara langsung. Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan *blender* hingga sampel terbentuk menjadi serbuk dan dilanjutkan dengan proses ekstraksi dengan metode maserasi (Veljic *et al.*, 2010).

Ekstraksi Sampel

Sampel *O. albidium* yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 200 gram kemudian dimaserasi dengan metanol 1,5 L pada suhu ruang. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam, setiap 1 x 24 jam dilakukan pengadukan menggunakan batang pengaduk dan disaring. Serbuk *O. albidium* dimaserasi kembali dengan metanol baru sebanyak 500 ml. Ekstrak kemudian dikumpulkan menjadi satu dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 40 rpm dan tekanan 0,06-0,08 Mpa selama 7 jam. Ekstrak yang diperoleh dimasukkan kedalam wadah yang steril dan ditimbang berat ekstrak kentalnya. Ekstrak disimpan dalam desikator silika gel agar terhindar dari kontaminasi jamur (Veljic *et al.*, 2010).

Pembuatan Larutan Sampel

Pembuatan ekstrak *O. albidium* yaitu ekstrak dilarutkan dalam larutan DMSO 10%. Berat ekstrak sesuai dengan konsentrasi perlakuan sebanyak 20 mg, 40 mg, 60 mg, 80 mg dan 100

mg dilarutkan masing- masing dengan 1ml DMSO 10%. Kontrol positif menggunakan 2,5 mg kloramfenikol sedangkan kontrol negatif dan pelarut menggunakan 2 ml akuades dan DMSO 10%.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada *O. albidium* meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji flavonoid, uji saponin, uji saponin dan uji terpenoid (Marliana *et al.*, 2005).

Peremajaan Kultur Murni Bakteri

Kultur murni bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* diinokulasikan sebanyak 1 ose pada media agar miring NA dalam tabung reaksi dengan cara digoreskan secara aseptik, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C .

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Kultur murni bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* yang telah dimurnikan selama 24 jam diambil masing- masing sebanyak 1 ose dan dimasukkan ke dalam 50 ml media NB, kemudian dihomogenkan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang. Untuk mengetahui nilai *Optical Density* (OD) pada bakteri diukur dengan spektrofotometer setiap 2 jam dengan panjang gelombang 500-600 nm sehingga diperoleh nilai OD sebesar $\leq 0,6$. Nilai $\text{OD} \leq 0,6$ pada bakteri *S. epidermidis* ditunjukkan pada jam ke -7 setelah dilakukan proses homogenisasi pada bakteri sedangkan untuk bakteri *P. aeruginosa* diperoleh pada jam ke -5 (Faridah *et al.*, 2010).

Uji Daya Hambat

Pengujian daya hambat ekstrak *O. albidium* terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* dilakukan dengan metode difusi. Sebanyak 0.1 ml suspensi bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* masing- masing dimasukkan ke dalam cawan petri steril kemudian dicampurkan dengan 15 ml media NA dan dihomogenkan dan dibiarkan media NA memadat. Media yang telah padat selanjutnya diletakkan kertas saring yang telah direndam dalam larutan sampel selama 15 menit dengan berbagai taraf konsentrasi secara aseptik. Media yang telah diisi dengan sediaan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam dan pengamatan dilakukan pada jam ke -24 dan ke- 48 jam. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada tabel 1 (Davis dan Stout, 1971 dalam Afriani, 2010).

Tabel 1. Katagori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat.

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 20 mm	Sangat Kuat
11-19 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
>5 mm	Lemah

Sumber : Davis dan Stout, 1971 dalam Afriani, 2010).

Parameter Pengamatan

Zona hambat yang terbentuk pada jam ke- 24 dan ke- 48 setelah pengujian, diukur dan dibandingkan dengan kontrol positif (kloramfenikol).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Varians (ANOVA). Keadaan yang menunjukkan beda nyata dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil Analisis Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif *O. albidium* memiliki kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, polifenol, flavonoid, terpenoid dan saponin.

Kekuatan aktivitas antibakteri ekstrak *O. albidium* terhadap pertumbuhan *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa*

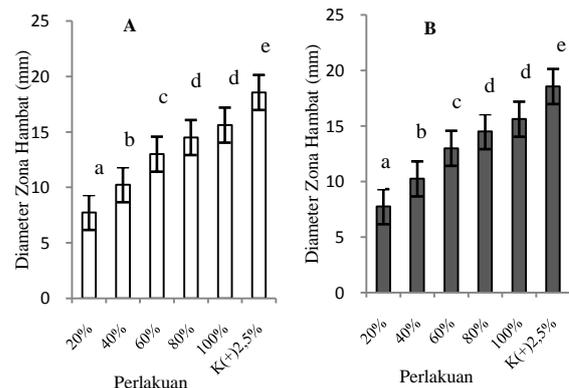
Kekuatan aktivitas ekstrak terhadap bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* tergolong dalam katagori sedang dan kuat. Menurut kekuatan tingkat aktivitas ekstrak, bakteri *S. epidermidis* pada konsentrasi 20 % dan 40% tergolong sedang dan untuk konsentrasi 60%, 80% dan 100% tergolong kuat sedangkan untuk bakteri *P. aeruginosa* tergolong sedang pada konsentrasi 20%, 40%, dan 60% dan tergolong kuat pada konsentrasi 80% dan 100% (Tabel 2).

Tabel 2. Tingkat kekuatan aktivitas ekstrak *O. albidium* terhadap bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa*

Tingkat konsentrasi ekstrak (%)	Bakteri <i>S. epidermidis</i>	Bakteri <i>P. aeruginosa</i>
20	Sedang	Sedang
40	Sedang	Sedang
60	Kuat	Sedang
80	Kuat	Kuat
100	Kuat	Kuat
Kloramfenikol	Kuat	Kuat

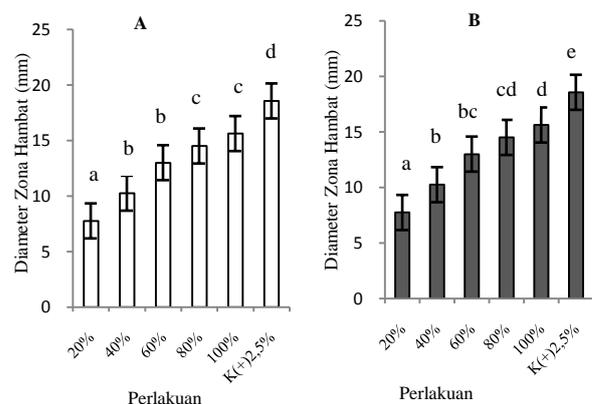
Pengaruh ekstrak *O. albidium* terhadap diameter zona hambat inkubasi 24 jam dan 48 jam pada bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa*

Hasil analisis ANOVA menunjukkan ekstrak *O. albidium* pada berbagai konsentrasi berpengaruh nyata terhadap diameter zona hambat pada *S. epidermidis* untuk masa inkubasi 24 jam ($F_{5,18} = 172,61, p = 0,001$). Hasil yang sama juga ditunjukkan untuk masa inkubasi 48 jam ($F_{5,18} = 174,27, p = 0,001$) (Gambar 1).



Gambar 1. Pengaruh ekstrak *O. albidium* terhadap diameter zona hambat pada bakteri *S. epidermidis* dengan inkubasi A (24 jam) dan B (48 jam). Perbedaan huruf pada diagram batang diatas menunjukkan perbedaan yang signifikan menurut uji Tukey.

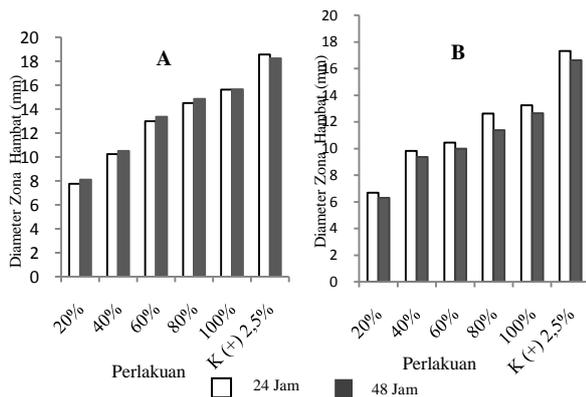
Ekstrak lumut daun tersebut juga berpengaruh nyata terhadap diameter zona hambat pada bakteri *P. aeruginosa* untuk masa inkubasi 24 jam ($F_{5,18} = 138, p = 0,001$, ANOVA) dan untuk masa inkubasi 48 jam ($F_{5,18} = 73,4, p = 0,001$, ANOVA) (Gambar 2).



Gambar 2. Pengaruh ekstrak *O. albidium* terhadap diameter zona hambat pada bakteri *P. aeruginosa* dengan inkubasi A (24 jam) dan B (48 jam). Perbedaan huruf pada diagram batang diatas menunjukkan perbedaan yang signifikan menurut uji Tukey.

Hubungan konsentrasi ekstrak O. albidium terhadap diameter zona hambat S. epidermidis dan P. aeruginosa pada inkubasi 24 dan 48 jam

Hasil penelitian menunjukkan diameter zona hambat yang terbentuk sedikit mengalami peningkatan disetiap inkubasi 48 jam pada bakteri *S. epidermidis* dan sedikit mengalami penurunan diameter zona hambat pada bakteri *P. aeruginosa* inkubasi 48 jam (Gambar 3).



Gambar 3. Diameter zona hambat ekstrak *O. albidium* terhadap bakteri A (*S. epidermidis*) dan B (*P. aeruginosa*) dengan masa inkubasi 24 dan 48 jam.

Pembahasan

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak *O. albidium* diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa*. Penghambatan yang terjadi terhadap bakteri dipengaruhi oleh adanya kandungan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak. Senyawa-senyawa antibakteri menurut Pelczar dan Chan (2005) memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan berbagai mekanisme dalam merusak sel bakteri, merusak permeabilitas dinding sel, menghambat kerja enzim dan mengubah molekul protein. Senyawa alkaloid, terpenoid dan saponin dapat menyebabkan dinding sel menjadi lisis. Menurut Yamasaki *et al.*, (2001) flavonoid dapat merusak permeabilitas dinding sel, menghambat motilitas dan protein. Sedangkan polifenol menurut Jawetz *et al.*, (2005) dapat menghambat aktivitas enzim protease.

Konsentrasi ekstrak *O. albidium* 100% pada kedua bakteri uji menghasilkan diameter zona hambat paling besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini karena konsentrasi ekstrak *O. albidium* 100% mengandung senyawa antibakteri dalam jumlah yang paling besar.

Konsentrasi senyawa antibakteri merupakan salah satu faktor dalam besarnya penghambatan. Sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (2005) semakin tinggi konsentrasi dan konsentrasi ekstrak, maka akan semakin besar efek atau aktivitas yang ditimbulkan.

Kontrol negatif berupa akuades dan kontrol pelarut DMSO 10% menunjukkan hasil yang berbeda signifikan terhadap semua perlakuan ekstrak *O. albidium* yang diberikan. Hal yang serupa juga ditunjukkan pada penelitian Fadhillah (2010) yang menunjukkan tidak terjadinya penghambatan terhadap kontrol negatif dan pelarut pada ekstrak *Marchantia paleacea*. Hasil ini terjadi dikarenakan pada kedua kontrol tersebut tidak mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan sehingga tidak terdapat zona hambat.

Pengaruh konsentrasi ekstrak perlakuan 20% hingga 100% pada bakteri *S. epidermidis* sedikit mengalami peningkatan sedangkan untuk bakteri *P. aeruginosa* sedikit mengalami penurunan pada masa inkubasi 48 jam. Peningkatan dan penurunan yang terjadi pada diameter zona hambat merupakan adanya pengaruh efek toksisitas selektif dari ekstrak *O. albidium*. Menurut Waluyo (2007), sifat toksisitas selektif diantaranya bersifat bakterisida dan bakteriostatik. Sifat bakterisida dapat membunuh sel bakteri, namun tidak menyebabkan lisis hal ini dapat dilihat adanya peningkatan zona hambat sejalan dengan semakin lamanya sel yang terpapar oleh zat antibakteri. Pernyataan ini sesuai dengan hasil yang ditunjukkan pada inkubasi 48 jam oleh bakteri *S. epidermidis* sedangkan untuk bakteri *P. aeruginosa* memperlihatkan sifat bakteriostatik yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri uji hal ini dapat dilihat dari adanya penurunan diameter zona hambat sejalan dengan semakin lamanya sel yang terpapar dengan zat antibakteri.

Konsentrasi ekstrak *O. albidium* yang digunakan menghasilkan respon hambatan yang berbeda terhadap kedua jenis bakteri uji (Gambar 3). Perbedaan respon hambatan dikarenakan kedua bakteri memiliki perbedaan struktur dinding sel. Bakteri *S. epidermidis* dan bakteri *P. aeruginosa* memiliki tingkat sensitifitas dinding sel yang berbeda terhadap perlakuan fisik, enzim, dan antibiotik. Pelzar dan Chan (2005) menyebutkan dinding sel bakteri *S. epidermidis* lebih sederhana sehingga dapat memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel. Bakteri *S. epidermidis* memiliki senyawa polisakarida dan asam amino pada lapisan peptidoglikannya sedangkan untuk

P. aeruginosa memiliki struktur dinding sel lebih kompleks dan mengandung senyawa komponen lipid yang lebih banyak dibanding dengan bakteri *S. epidermidis*. Lapisan lipid pada bakteri *P. aeruginosa* melindungi sitoplasma dari lingkungannya dan mempunyai sistem selektif terhadap zat-zat asing pada lapisan lipopolisakarida. Sifat selektif dari bakteri gram negatif memberikan manfaat dalam sistem pertahanannya.

Bakteri *S. epidermidis* lebih peka terhadap ekstrak *O. albidum* dibandingkan dengan *P. aeruginosa*. Hal ini dapat dilihat pada konsentrasi 60%, ekstrak *O. albidum* sudah mampu menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* dengan katagori kuat sedangkan untuk bakteri *P. aeruginosa* masih tergolong katagori sedang (Tabel 2). Penghambatan yang dikatagorikan kuat pada bakteri *P. aeruginosa* baru terjadi pada konsentrasi ekstrak *O. albidum* 80%. Menurut Ajizah (2004) konsentrasi senyawa antibakteri sangat berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diuji. Besarnya zona hambat pada media merupakan besarnya respon ekstrak *O. albidum* terhadap sensitivitas bakteri pada konsentrasi tertentu.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ketiga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Monica Sulaiman yang telah membantu dalam identifikasi lumut.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, R, 2010, *Aktifitas Antimikroba Madu dari Lebah Apis dorsata dan Apis mellifera Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*, Skripsi, Universitas Tanjungpura, Pontianak
- Ajizah, A, 2004, Sensitifitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L, *Bioscientiae*, vol. 1, no. 1, hal. 31 - 38.
- Cushnie, TPT dan Lamb, AJ, 2005, Antimicrobial Activity of Flavonoids, *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 26, hal. 343-356.
- Faridah, L, Suharjono & Osfar, 2010, *Isolasi, Karakterisasi dan Pertumbuhan Bakteri dari Sarang Burung Walet (Collocalia fuchiphaga) dalam Media Glukosa dan Sukrosa*, Artikel, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia.
- Jawetz, E, Melnick, JL & Adelberg, EA, 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, Ed ke-20, Penerjemah Edi Nugroho dan RF. Maulany, Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Krisnayana, MP, Putra, IP, Putra & Rahayu, AT, 2010, *Potensi Lumut Sebagai Zat Antimikroba*, Institut Pertanian Bogor.
- Marliana, SD, Suryanti, V & Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq Swartz.) dalam Ekstrak Etanol, *Jurnal Biofarmasi*, vol. 4, hal. 26-31.
- Fadhilla, R., 2010, *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Lumut Hati (Marchantia paleacea) Terhadap Bakteri Patogen Dan Pembusuk Makanan*, Tesis, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Pelczar, MJ, and Chan, 2005, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid II, UI Press, Jakarta.
- Veljic, M, Ćiric, A, Sokovic, M, Janackovic, P & Marini, PD, 2010, Antibacterial and Antifungal Activity of the Liverwort (*Ptilidium pulcherrimum*) Methanol Extract, *Juornal Biology*, University of Belgrade, Faculty of Biology, vol. 2, hal 381 - 395
- Waluyo, L, 2007, *Mikrobiologi Umum*, Edisi Revisi, UPT, Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang.
- Yamasaki, H, Sakihama Y, & Cohen, 2001, Roles of Plant Flavonoid in Interaction with Microbes: from Protection Againts Pathogen to the Mediation of Mutualisme. *Jurnal Laboratory of Cell and Functional Biology*, Faculty of Science, University of the Ryukyus, Nishihara, Okinawa, Japan, vol. 81, hal. 7736-8019.