

Uji Parameter Non Spesifik dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*)

Yuli Haryani^{*}, Siti Muthmainah¹ dan Saryono Sikumbang¹

¹Department of Chemistry, Faculty of Mathematic and Natural Sciences, Pekanbaru, Riau, Indonesia

ABSTRAK

Dahlia variabilis merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemukan di daerah dataran tinggi Indonesia. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan, diketahui bahwa umbi tanaman dahlia berbunga merah mengandung golongan senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin. Untuk dapat digunakan sebagai bahan aktif sediaan obat antimikroba, ekstrak tumbuhan berkhasiat obat harus distandardisasi untuk memenuhi persyaratan mutu ekstrak. Hasil standardisasi melalui uji parameter non spesifik didapatkan kadar air ekstrak metanol umbi dahlia sebesar $25,48 \pm 1,63\%$, kadar abu $4,06 \pm 0,15\%$, dan tidak terdeteksi adanya cemaran logam berat. Sementara uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar pada variasi konsentrasi 10; 8; hingga 2% menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10% b/v ekstrak metanol umbi dahlia memiliki aktivitas paling tinggi baik terhadap *Escherichia coli* maupun terhadap *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter hambatan $8,67 \pm 0,57$ dan $8,33 \pm 0,28$ mm secara berturut-turut.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri, *Dahlia variabilis*, parameter non spesifik

ABSTRACT

Dahlia variabilis is one of plant that commonly growing in highland hills in Indonesia. The preliminary screening on secondary metabolites showed that the presence of flavonoids, phenolics and saponin in methanol extract of this plant's tuber. Its methanol extract was subjected to the evaluation of non-specific parameter of extract standardization as well as antimicrobial assay using disc diffusion method against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The result revealed that the methanol extract contained $25.48 \pm 1.63\%$ of water content, $4.06 \pm 0.15\%$ of ash content, and there was no heavy metal contamination detected. Antibacterial activity assay of three difference concentrations of the extract (10; 8 and 2%) demonstrated that extract with 10% of concentration gave the strongest activity against two tested bacterium with diameter of inhibition of 8.67 ± 0.57 and 8.33 ± 0.28 mm against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, respectively.

Keywords: Antibacterial activity, *Dahlia variabilis*, non specific parameter

PENDAHULUAN

Tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*) merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemukan di daerah dataran tinggi Indonesia. Selama ini dahlia hanya dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Bunga dahlia dimanfaatkan sebagai bunga potong sedangkan umbinya yang masih memiliki batang digunakan sebagai bibit sementara umbi yang tidak memiliki batang terbuang menjadi limbah. Padahal umbi dahlia merupakan sumber karbohidrat yang berupa inulin. Umbi dahlia kering mengandung inulin sebanyak 65-75% dari total karbohidrat yang ada didalamnya. Besarnya jumlah inulin di dalam umbi dahlia menjadi potensi yang besar untuk diolah menjadi gula fruktosa dan fruktooligosakarida. Fruktosa adalah bahan pemanis alami yang memiliki kadar kemanisan 2,5 kali lipat dari sukrosa (Sikumbang dan Hindersah, 2009).

Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan Suryadi (2007), diketahui bahwa umbi tanaman dahlia berbunga

merah mengandung golongan senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin. Beberapa golongan senyawa tersebut dilaporkan berpotensi sebagai antimikroba. Untuk mengeksplorasi potensi tanaman dahlia, maka dilakukan penelitian berupa uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol umbi dahlia berbunga merah. Namun, untuk dapat digunakan sebagai bahan aktif sediaan obat antimikroba, ekstrak tumbuhan berkhasiat obat harus distandardisasi untuk memenuhi persyaratan mutu ekstrak. Selain diuji aktivitas antimikrobanya pada penelitian ini juga diuji parameter standar non spesifiknya.

BAHAPANMETODE

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan gelas, lampu UV model UVGL-58 dengan $\lambda = 254/366$ nm, *Laminar Air Flow* (Esco Micro PTE LTD HD 3), autoclaf, oven, inkubator, *cawan petri*, pipet mikro.

*Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Riau
Email: yuli.haryani@gmail.com
Telp: +628137 432 0350

Bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak umbi tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*) berbunga merah, pelarut *n*-heksana dan metanol, etil asetat, etanol absolut, silika gel Merck 60 (230-400 mesh), *Potato Dextrose Agar* (PDA), kertas cakram, *Plate count Agar* (PCA), *Eosin Methylene blue* (Merck, Cat. No. 1.01347.0500), *Air Suling Agar* (ASA) *Nutrient Broth* (Merck, Cat. No. 1.05443.0500), *Nutrient Agar* (Merck, Cat. No. 1.05450.0500), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, dan *Vibrio cholerae* yang diambil dari koleksi laboratorium biokimia Universitas Riau.

Sampel Tumbuhan. Umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) berbunga merah yang diperoleh dari Padang Panjang, Sumatera Barat. Umbi dahlia dibersihkan, dipotong tipis dan dikeringkan di udara terbuka. Umbi kering tersebut dihaluskan sampai menjadi bubuk. Bubuk halus umbi dahlia selanjutnya dimaserasi dengan pelarut *n*-heksana selama ± 24 jam kemudian diultrasonikasi. Maserat yang diperoleh ditampung dan pelarutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana. Residu diperoleh ekstrak kental *n*-heksana. Residu dari proses ekstraksi *n*-heksana dimaserasi lagi dengan cara yang sama menggunakan pelarut yang lebih polar yakni dengan metanol. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental metanol.

Uji Parameter Non-Spesifik. Penentuan bobot jenis ekstrak metanol umbi dahlia dimulai dengan membersihkan piknometer, kemudian piknometer tersebut dikeringkan, dan ditimbang. Selanjutnya ekstrak dimasukkan ke dalam piknometer, kelebihan ekstrak dibuang lalu ditimbang. Bobot jenis ekstrak cair adalah hasil yang diperoleh dari membagi bobot ekstrak dengan volume piknometer yang digunakan.

Penetapan kadar air ekstrak metanol menggunakan metode gravimetri. Krusibel porselin kosong dikonstankan terlebih dahulu dengan pemanasan pada suhu 100-105°C selama 2 jam, didinginkan dalam desikator, dan kemudian ditimbang. Sebanyak 1 g sampel ditimbang dalam krusibel yang telah diketahui beratnya, dikeringkan dalam oven pada suhu 105-110°C selama 5 jam, didinginkan dalam desikator dan selanjutnya ditimbang kembali. Perlakuan ini diulang sampai beratnya konstan. Kadar air dihitung dalam persen terhadap berat sampel awal (Depkes RI, 2000).

Penetapan kadar abu ekstrak metanol umbi dahlia dimulai dengan mengonstankan krusibel porselin kosong dikonstankan dengan pemanasan pada suhu 100-105°C

selama 2 jam lalu didinginkan dalam desikator. Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan ke dalam krus yang telah konstan, dipijarkan dalam *furnace* pada suhu 600°C selama 6 jam hingga sampel menjadi abu, kemudian didinginkan dan ditimbang. Penimbangan dilakukan secara berulang sampai didapatkan berat konstan. Kadar abu dihitung dalam persen terhadap berat sampel awal.

Penentuan batas logam berat di dalam ekstrak dilakukan secara destruksi basah dengan asam nitrat pekat dan asam klorida pekat. Satu gram sampel ditempatkan dalam *beaker glass*, ditambahkan 10 mL HNO₃ pekat 65%, dan dipanaskan menggunakan *hot plate* dengan suhu 100-120°C. Kemudian ditambahkan 3 mL HCl pekat melalui dinding *beaker glass* dan dipanaskan kembali. Setelah dingin sampel hasil destruksi disaring dan dimasukkan dalam labu ukur lalu volumenya ditepatkan 100 mL dengan akuades. Kadar logam berat ditentukan dengan *Atomic Absorbption Spectroscopy* (Depkes RI, 2000).

Uji Antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Bakteri *Escherichia coli* LBKURCC 11 dan *Staphylococcus aureus* LBKURCC 19 untuk pengujian diremajakan dan disiapkan dalam larutan *Nutrient Broth* (NB). Sebanyak 3 mL biakan bakteri dalam *nutrient broth* dipipet ke dalam tabung reaksi besar yang telah berisi 30 mL *nutrient agar* (suhu 50°C). Kemudian divortex dan dituang ke dalam cawan petri. Cawan petri digoyang perlahan supaya bakteri dan media agar homogen. Media *nutrient agar* dibiarkan memadat, lalu di atas permukaan agar diletakkan kertas cakram berdiameter 6 mm yang telah ditetesi sampel uji sebanyak 50 μ L dengan konsentrasi 10; 8; 6; 4 dan 2% (b/v) melalui pengenceran bertingkat menggunakan pelarut etanol absolut. Sebagai kontrol negatif digunakan etanol absolut, dan kontrol positif yaitu 30 μ g Amoxsan[®]. Selanjutnya cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C. Diameter daerah hambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji diukur setelah 24 jam inkubasi, pengerjaan diulangi tiga kali dan dilakukan secara aseptik (Seeley et al., 2001).

Selanjutnya dilakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol dengan metode kertas cakram. Bakteri disuspensikan dalam *nutrient broth* dan sebanyak 3 mL biakan bakteri dimasukkan ke dalam tabung reaksi besar yang berisi 30 mL media *nutrient agar* yang telah disterilisasi kemudian divortex dan dituang ke dalam cawan petri.

Larutan dari sampel yang diuji dibuat dengan konsentrasi 1,75; 1,5; 1,25; 1,0; 0,75 dan 0,5% (b/v) melalui pengenceran bertingkat menggunakan pelarut etanol absolut. Selanjutnya sampel diabsorbsikan pada kertas cakram sebanyak 50 µL, setelah kering kertas cakram diletakkan dalam cawan petri yang telah terdapat biakan bakteri. Sebagai kontrol positif digunakan 30 µg Amoxsan® dalam etanol absolut, dan kertas cakram yang diabsorbsikan etanol absolut digunakan sebagai kontrol negatif. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan, adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri terlihat sebagai daerah atau zona bening di sekeliling kertas cakram. Zona hambatan yang terbentuk diukur dengan jangka sorong.

Analisis Data. Data yang diperoleh dari uji parameter non spesifik dibandingkan dengan literatur dari buku pedoman parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan analisis *Uji Jarak Duncan* untuk mengetahui senyawa dan konsentrasi yang memberikan aktivitas terbaik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter Non Spesifik. Bobot jenis ekstrak kental metanol umbi dahlia dihitung dengan menggunakan piknometer. Hasil yang didapatkan adalah $1,45 \pm 1,15 \times 10^{-5}$ m/v. Pengukuran bobot jenis ekstrak kental dapat dilakukan selama ekstrak tersebut masih dapat dituang. Bobot jenis ekstrak terkait dengan kemurnian dan kontaminasi ekstrak. Dari hasil yang diperoleh bobot jenis ekstrak umbi dahlia >1 maka kontaminasi kecil, karena ekstrak berupa ekstrak kental yang sedikit mengandung air (Arifin *et al.*, 2006). Kadar air dalam ekstrak diperoleh sebesar $25,48 \pm 1,63\%$. Menurut literatur *range* kadar air yang diperbolehkan untuk jenis ekstrak kental adalah antara 5-30%. Sementara untuk ekstrak cair adalah lebih besar dari 30% dan ekstrak kering lebih kecil dari 5%. Penentuan kadar air juga terkait dengan kemurnian ekstrak. Semakin sedikit kadar air pada ekstrak maka semakin sedikit kemungkinan ekstrakter kontaminasi oleh pertumbuhan jamur (Saifudin *et al.*, 2011).

Penentuan kadar abu bertujuan untuk menentukan karakteristik sisa kadar abu non organik setelah pengabuan. Ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal senyawa anorganik saja. Kadar abu pada ekstrak metanol umbi dahlia berbunga merah adalah $4,06 \pm 0,15\%$. Hal ini menunjukkan bahwa sisa

bahan anorganik dalam ekstrak metanol umbi dahlia adalah $4,06 \pm 0,15\%$.

Standardisasi dan aspek non spesifik diarahkan pada batas maksimal yang diperbolehkan terhadap material berbahaya yang ada dalam ekstrak. Untuk itu penggunaan metode yang memiliki batas deteksi rendah dan sensitif sangat diperlukan. Agar data yang didapat valid maka dalam menganalisis cemaran logam berat digunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS). Kadar logam Pb dan Cd pada sampel ekstrak umbi dahlia berbunga merah berdasarkan analisis AAS menunjukkan hasil yang tidak terdeteksi atau negatif. Dengan demikian ekstrak metanol umbi dahlia memenuhi syarat parameter standardisasi obat bahan alam. Batas maksimum tentang cemaran logam Pb menurut SK Dirjen POM No 03725/B/SK/VII/89 yaitu 10 mg/kg (Arifin *et al.*, 2006). Hasil analisis parameter non spesifik dapat dilihat pada Tabel 1.

Aktivitas Antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar (uji Kirby dan Bauer). Bakteri uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol terhadap bakteri uji dilakukan dengan lima variasi konsentrasi (2; 4; 6; 8 dan 10%) dan tiga kali pengulangan. Sebagai kontrol negatif digunakan etanol absolut dan kontrol positif Amoxsan® 30µg. Amoxsan® merupakan turunan dari amoksisilin yang bersifat merusak dinding sel bakteri. Antibiotik ini banyak digunakan karena daya serapnya yang baik dan memiliki spektrum luas (Ashnagar & Naseri, 2007).

Dari hasil pengujian diketahui bahwa ekstrak methanol umbi dahlia berbunga merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Tabel 2). Aktivitas antibakteri ekstrak metanol umbi dahlia yang divariasikan dengan konsentrasi 10; 8 hingga 2% b/v menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10% b/v ekstrak metanol memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi baik terhadap *Escherichia coli* maupun terhadap *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter hambat

Tabel 1. Hasil standardisasi parameter non spesifik ekstrak metanol umbi dahlia berbunga merah

| Parameter non spesifik | Hasil | Standar literatur |
|------------------------|------------------------------------|-------------------|
| Bobot jenis | $1,45 \pm 1,15 \times 10^{-5}$ m/v | |
| Kadar air | $25,48 \pm 1,63\%$ | 5-30%* |
| Kadar abu | $4,06 \pm 0,15\%$ | |
| Cemaran logam berat | | |
| Pb | Ttd | 10 mg/kg** |
| Cd | Ttd | 0,3mg/kg** |

Keterangan: *, Saifudin *et al.*, 2011, ** : SK Dirjen POM, No.03725/B/SK/VII/89, Ttd : tidak terdeteksi

8,67±0,57 dan 8,33±0,28 mm secara berturut-turut. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol umbi dahlia memiliki aktivitas antibakteri walaupun daya hambatnya kecil terhadap bakteri uji. Kemampuan ekstrak metanol umbi dahlia tersebut dapat disebabkan oleh adanya kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, fenolik, dan saponin berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan oleh Suryadi (2007).

Setelah dilakukan uji aktivitas antibakteri dilakukan pengujian terhadap penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak. Penentuan KHM bertujuan untuk menentukan konsentrasi terkecil ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum ekstrak terhadap kedua bakteri uji, konsentrasi ekstrak divariasikan sebesar 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5 dan 1,75% b/v.

Analisis data menggunakan uji Duncan jarak berganda memberikan hasil seperti terlihat pada Tabel 2. Pada konsentrasi 0,75% ekstrak metanol umbi dahlia masih mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, sehingga konsentrasi 0,75% merupakan KHM ekstrak metanol umbi dahlia berdasarkan variasi konsentrasi yang dilakukan. Sedangkan pada konsentrasi 0,5% ekstrak metanol umbi dahlia masih mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sehingga konsentrasi 0,5% merupakan KHM ekstrak metanol umbi dahlia pada *Staphylococcus aureus* dari variasi konsentrasi yang dilakukan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa keaktifan ekstrak metanol umbi dahlia berbunga merah dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan

Staphylococcus aureus masih cukup baik walaupun pada konsentrasi rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan uji parameter non spesifik ekstrak metanol umbi dahlia yang dilakukan terhadap penentuan bobot jenis ($1,45 \pm 1,15 \times 10^{-5}$ m/v), kadar air ($25,48 \pm 1,63\%$), kadar abu ($4,06 \pm 0,15\%$), dan cemaran logam berat Pb dan Cd yang tidak terdeteksi menunjukkan bahwa ekstrak metanol umbi dahlia memenuhi syarat parameter standardisasi obat bahan alam yang ditetapkan oleh Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2000).

Kemampuan ekstrak kental metanol umbi dahlia dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang dilakukan pada konsentrasi 10 hingga 0,25% b/v dalam pelarut etanol absolut menunjukkan daya hambat yang terbesar pada konsentrasi 10% dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 0,75% dengan rata-rata diameter hambat masing-masing sebesar 8,67±0,57 dan 6,50±0,00 mm.

Kemampuan ekstrak kental metanol umbi dahlia dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dilakukan pada konsentrasi 10 hingga 0,25% b/v dalam pelarut etanol absolut menunjukkan daya hambat yang terbesar pada konsentrasi 10% dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 0,5% dengan rata-rata diameter hambat masing-masing sebesar 8,67±0,57 dan 6,50±0,00 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D. & Rasyid, R. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr. *Journal Sains Teknologi Farmasi*, **11(2)**: 88-93
- Ashnager, A. & Naseri, N.G. 2007. Analysis of Three Penicillin Antibiotics (Ampicillin, Amoxicillin, and Cloxacillin) of Several Iranian Pharmaceutical Companies by HPLC. *E-Journal of Chemistry*, **4(4)**: 536-545
- Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M. and Falkinham, J.O. 2004. *Microbiological Methods* Edisi ke Delapan. Oxford University Press, UK.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Saifudin, A., Rahayu, V. and Teruna, H.Y. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Seeley, H.W., Vandemark, P.J. and Lee, J.J. 1991. *Microbes In Action. A Laboratory Manual of Microbiology*. W.H. New York: Freeman dan Company.
- Sikumbang, S. dan Hindersah, R. 2009. *Tanaman Dahlia*. Pekanbaru: Penerbit UNRI Press.
- Suryadi, A.E. 2007. *Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Umbi Dahlia (Dahlia variabilis)*. Skripsi FMIPA Universitas Riau, Pekanbaru.

Tabel 2. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol umbi Dahlia terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

| Perlakuan | Rata-rata diameter hambat (mm)* | |
|-------------|---------------------------------|------------------------------|
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 10% | 8,67±0,57 ^b | 8,33±0,28 ^a |
| 8% | 8,33±0,57 ^b | 8,00±0,00 ^b |
| 6% | 7,33±0,57 ^c | 8,00±0,00 ^b |
| 4% | 7,00±0,00 ^{cd} | 7,50±0,00 ^c |
| 2% | 6,83±0,28 ^{cd} | 7,17±0,17 ^d |
| 1,75% | 7,33±0,17 ^{cd} | 6,90±0,10 ^{de} |
| 1,5% | 7,00±0,00 ^{cd} | 6,83±0,17 ^{ef} |
| 1,25% | 6,67±0,28 ^{cd} | 6,57±0,07 ^{fg} |
| 1% | 6,57±0,00 ^{cd} | 6,50±0,00 ^g |
| 0,75% | 6,50±0,00 ^d | 6,47±0,33 ^g |
| 0,5% | 0,00±0,00 ^e | 6,40±0,00 ^g |
| 0,25% | 0,00±0,00 ^e | 0,00±0,00 ^h |
| Kontrol (+) | 12,67±1,15 ^a | 8,33±0,28 ^a |
| Kontrol (-) | 0,00±0,00 ^e | 0,00±0,00 ^h |

Keterangan: *Harga rata-rata diameter hambat dengan tiga kali pengulangan. Pangkat huruf yang sama menyatakan tidak berbeda secara nyata pada tingkat 5% ($p > 0,05$) berdasarkan uji Duncan jarak berganda