

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TUMBUHAN LUMUT HATI (*Marchantia paleacea*) TERHADAP BAKTERI PATOGEN DAN PERUSAK PANGAN

[Antibacterial Activity of Liverwort (*Marchantia paleacea*) Extract on Pathogenic and Food Spoilage Bacteria]

Reza Fadhilla^{1)*}, Eka Aditya Putri Iskandar²⁾ dan Harsi Dewantari Kusumaningrum³⁾

¹⁾ Program Studi Ilmu Pangan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Cibodas, Bogor

³⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 02 Agustus 2010 / Disetujui 26 Juli 2012

ABSTRACT

Liverwort (Marchantia paleacea) from Cibodas Botanical Garden Bogor Indonesia was used as raw materials in this research. The objective of this research was to assess the potential of antibacterial activity of liverwort (M. paleacea). Maceration using 4 different solvents i.e ethanol, methanol, ethyl acetate, and hexane was used to extract the active compound. The potential of antibacterial activity of the extracts was assessed by agar diffusion method and direct-contact test by determining the minimum inhibitory concentration (MIC). The data showed that the ethanol extract had the biggest inhibition zone on three test bacteria. The inhibition zone and MIC were 10.8 mm and 0.7 mg/ml for S. aureus; 4.5 mm and 8.0 mg/ml for S. Typhimurium; 5.8 mm and 5.9 mg/ml for P. aeruginosa, respectively. The total phenol content of the extract was 22 mg/g. Phenolic, triterpenoid and flavonoid were positively detected in the extracts.

Keywords: antibacterial, *Marchantia paleacea*, minimum inhibitory concentration, solvent

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas antibakteri ekstrak lumut hati (*Marchantia paleacea*) asal Kebun Raya Cibodas, Bogor, Indonesia. Ekstrak senyawa aktif lumut dilakukan secara maserasi menggunakan 4 macam pelarut, meliputi etanol, metanol, etil asetat, dan heksana. Selanjutnya, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dilakukan dengan metode difusi agar terhadap masing-masing bakteri uji, dan hanya ekstrak terbaik yang diuji lanjut dengan uji kontak langsung. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol adalah ekstrak terbaik. Data zona hambat dan konsentrasi hambat minimal (MIC) ekstrak etanol masing-masing terhadap bakteri uji adalah *S. aureus*; sebesar 10,8 mm dan 0,7 mg/ml, *S. Typhimurium* sebesar 4,5 mm dan 8,0 mg/ml, dan *P. aeruginosa* sebesar 5,8 mm and 5,9 mg/ml. Kandungan senyawa fenolik, triterpenoid, dan flavonoid diketahui positif ada, dengan analisis fenol total sebesar 22 mg/gr.

Kata kunci: antibakteri, *Marchantia paleacea*, konsentrasi hambat minimal (MIC), pelarut

PENDAHULUAN

Penggunaan lumut hati *Marchantia*, khususnya jenis *Marchantia polymorpha* sebagai tumbuhan obat tradisional telah lama diterapkan di Cina, Eropa, dan Amerika Utara. Beragam aktivitas biologis yang teramati dari ekstrak lumut tersebut meliputi antibakteri, antipanggang, antipiretik, antitoksin, antiseptik, diuretik, dan antihepatitis (Asakawa, 2007). Komponen-komponen bioaktif yang berperan penting dalam beragam aktivitas tersebut adalah senyawa terpenoid (monoterpenoid, sesquiterpenoid, diterpenoid, triterpenoid), dan fenolik sederhana (Asakawa *et al.*, 2009; Ilhan *et al.*, 2006; Xiao *et al.*, 2006). Lebih rinci Asakawa *et al.* (2009) menyatakan bahwa kandungan fenolik sederhana pada *M. polymorpha* sejumlah besar dikarakteristik dalam bentuk lipofilik dan hidrofilik, termasuk flavon dan flavon glikosida yang diekstrak dengan menggunakan pelarut polar metanol.

Pemanfaatan ekstrak tumbuh-tumbuhan sebagai alternatif untuk bahan pengawet pangan telah sejak lama diterapkan, salah satunya adalah ekstrak sirih. Ekstrak dari daun sirih mengandung komponen bioaktif golongan terpenoid dan fenolik yang berfungsi sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen dan pembusuk pangan (Suliantari *et al.*, 2008). Untuk itu eksplorasi terhadap senyawa antibakteri baru sejenis terus dilakukan, salah satunya yaitu menggali potensi kandungan aktivitas dari tumbuhan lumut sebagai sumber alternatif baru antibakteri untuk pangan.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 5923, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *S. Typhimurium* ATCC 14028 dan *S. aureus* ATCC 5923 merupakan bakteri patogen yang sering menyebabkan kontaminasi pangan. Diperkirakan lebih dari 1/3 kasus *Foodborne disease* yang terjadi di dunia disebabkan oleh *S. Typhimurium* (Antunes *et al.*, 2003).

S. Typhimurium dapat mengakibatkan penyakit salmonellosis pada manusia, sedangkan *S. aureus* dikenal sebagai

*Korespondensi Penulis :
Email : microzaster@gmail.com

bakteri penyebab keracunan pangan (*food poisoning*) karena menghasilkan enterotoksin tahan panas (100°C selama 30 menit) (Heredia *et al.*, 2009). Sebagai bakteri perusak pangan, dominasi *P. aeruginosa* dalam menimbulkan kerusakan dikarenakan oleh kemampuan bakteri ini menghasilkan enzim yang dapat memecah komponen lemak dan protein dalam pangan. Oleh karena itu, penggunaan ekstrak lumut hati jenis *Marchantia paleacea* diharapkan nantinya dapat menginaktivkan ketiga jenis bakteri tersebut.

Di Indonesia lumut jenis *Marchantia* tumbuh banyak di dataran tinggi beriklim sejuk, terutama jenis *M. paleacea* yang selama ini pemanfaatan terhadap kandungan senyawa bioaktifnya belum terekplorasi dengan baik. Lumut jenis ini tumbuh dengan cepat dan mendominasi diantara tumbuhan lumut jenis lainnya sehingga dikategorikan sebagai tumbuhan gulma.

Tujuan penelitian adalah memanfaatkan ekstrak *M. paleacea* sebagai sumber antibakteri baru asal Indonesia dan diharapkan isolat ekstrak ini nantinya mempunyai aktivitas luas terhadap bakteri patogen dan perusak pangan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah lumut hati jenis *Marchantia paleacea* koleksi Taman Lumut Kebun Raya Cibodas Kabupaten Bogor. Bakteri referensi uji yang digunakan adalah bakteri patogen pangan *Staphylococcus aureus* ATCC 5923, dan *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, serta isolat lokal bakteri perusak pangan *Pseudomonas aeruginosa* koleksi Laboratorium Seafast Center. Media dan bahan kimia yang digunakan di antaranya *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), *Plate Count Agar* (PCA), pelarut alkohol etanol, metanol, heksana, dan etil asetat serta NaCl 0,85%.

Ekstraksi komponen antibakteri

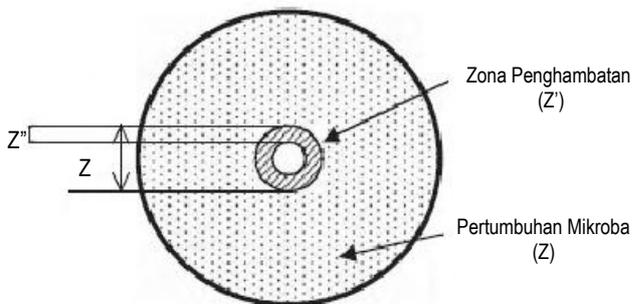
Proses ekstraksi dilakukan menurut (Kumar dan Chaudhary, 2010) dilakukan bertahap secara maserasi dengan menimbang sebanyak 10 gram bubuk lumut kering, dan dicampur dengan pelarut etanol secara bertahap (100 ml/24 jam) sebanyak 3 kali atau selama 3 hari. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara digoyang dengan penggoyang (*shaker*), kemudian disaring menggunakan kertas saring. Keseluruhan hasil ekstraksi dicampur kembali setelah 3x24 jam proses ekstraksi. Selanjutnya pelarut diuapkan dengan alat *Rotavapor* (EL 131) dengan *water bath*. Alat ini memiliki kapasitas suhu *water bath* yang dapat disesuaikan antara 20–100°C dan kecepatan rotasi antara 30–220 rpm. Residu yang tertinggal dihilangkan dengan gas nitrogen sehingga didapat padatan terlarut, dan dihitung total rendemen. Proses ekstraksi serupa juga dilakukan terhadap pelarut metanol, etil asetat, dan heksana.

Awal penelitian dilakukan persiapan terhadap bahan baku lumut hati jenis *M. paleacea* meliputi proses sortasi, pengeringan suhu ruang (tidak terpapar sinar matahari secara langsung), analisis kadar air (AOAC, 2007). Proses pengeringan dilakukan sampai didapat kadar air konstan, yaitu dilakukan selama 14 hari dengan kadar air lumut kering akhir sebesar

17,47%. Selanjutnya sebelum diekstraksi, lumut kering dihancurkan menjadi bentuk bubuk dengan menggunakan *blender*.

Uji aktivitas antibakteri

Ekstrak dari masing-masing pelarut kemudian diuji aktivitas antibakteri dengan metode agar difusi sumur (Bodade *et al.*, 2008), terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 5923, *S. Typhimurium* ATCC 14028 dan isolat lokal *P. aeruginosa*. Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak dengan konsentrasi awal (100 mg/ml) sebanyak 60 µl ke dalam sumur (Ø 6 mm) dalam media agar yang telah diinokulasi bakteri uji. Inkubasi selanjutnya menggunakan suhu 37°C selama 24 jam untuk mendapatkan ekstrak terbaik. Ekstrak terbaik diperoleh dari pengukuran zona penghambatan terbesar (mm) yang dihasilkan. Zona penghambatan tersebut ditunjukkan dari daerah bening yang terbentuk, dan diukur dari tepi sumur (Z) (Gambar 1). Ekstrak ini kemudian diuji lanjut dengan uji kontak untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak.



Gambar 1. Pengukuran zona penghambatan dengan metode difusi agar nilai MIC dinyatakan sebagai konsentrasi terendah ekstrak lumut yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebanyak 90% atau menurunkan sebanyak 1 log koloni dari jumlah koloni awal (Hancock *et al.*, 2008)

Dalam penelitian ini, nilai MIC diperoleh dari perhitungan selisih antara jumlah bakteri inokulum awal dengan hasil uji kontak, sedangkan konsentrasi 0,0 mg/ml berfungsi sebagai kontrol (tanpa ekstrak), dan hanya digunakan untuk melihat kemampuan tumbuh dari bakteri inokulum awal. Uji kontak dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak dengan konsentrasi 0,1 sampai 10 mg/ml ke dalam tabung reaksi. Konsentrasi tersebut diperoleh dengan cara mengencerkan konsentrasi ekstrak pekat (100 mg/ml) menggunakan pelarut etanol. Dengan memakai persamaan $V_1N_1 = V_2N_2$, dapat diketahui berapa jumlah ekstrak (ml) yang harus dimasukkan ke dalam campuran TSB (ml) dan bakteri uji. Diketahui bahwa V_1 adalah volume ekstrak (ml) yang akan dimasukkan, V_2 adalah volume akhir yang ingin dicapai (2 ml), N_1 adalah konsentrasi ekstrak pekat, dan N_2 adalah konsentrasi ekstrak yang ingin dimasukkan. Inokulasi bakteri uji yang digunakan adalah umur 24 jam dengan jumlah bakteri 10^6 sampai 10^7 koloni/ml.

Penentuan nilai konsentrasi ekstrak tersebut didasarkan pada tingkat sensitivitas dari bakteri uji, dengan asumsi bahwa tingkat sensitivitas *S. aureus* ATCC 5923 lebih tinggi dibandingkan *S. Typhimurium* ATCC 14028 dan *P. aeruginosa*.

Inkubasi dilakukan secara goyang pada suhu 37°C selama 24 jam, dan diplating dalam cawan petri untuk menentukan jumlah bakteri pada setiap seri tabung pengujian. Selanjutnya kembali dilakukan inkubasi terhadap cawan pada suhu 37°C selama 48 jam.

Uji fitokimia kualitatif

Ekstrak terbaik yang diperoleh dari uji difusi sumur selanjutnya dianalisis komponen fitokimianya secara kualitatif (Harborne, 1996). Pengujian dilakukan terhadap beberapa senyawa meliputi senyawa fenolik, steroid, triterpenoid, tanin, dan flavonoid. Analisis terhadap senyawa fenolik dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ml ekstrak, lalu diteteskan pada *spot plate* dan ditambahkan NaOH 10%. Terbentuknya warna merah menandakan uji positif adanya kandungan senyawa fenol hidrokuinon. Analisis senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan dengan menimbang sebanyak 1 mg ekstrak kering dan dilarutkan ke dalam 2 ml kloroform. Selanjutnya ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrida dan 3 tetes asam sulfat pekat. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau (senyawa steroid) dan warna merah atau ungu (triterpenoid). Analisis senyawa tanin dilakukan dengan menimbang sebanyak 1 gram ekstrak yang telah dikeringkan dan dimasukkan ke dalam gelas piala, selanjutnya ditambahkan 12 ml air panas, dan dididihkan selama 15 menit lalu disaring. Filtrat kemudian ditambah beberapa ml larutan FeCl₃ 1%. Timbulnya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan tanin positif.

Analisis senyawa flavonoid dilakukan dengan mengambil ekstrak sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam gelas piala serta ditambahkan 100 ml air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya disaring, filtrat sebanyak 10 ml ditambah 0,5 gram serbuk magnesium dan 2 ml alkohol klorhidrat (campuran HCl 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 20 ml amil alkohol. Campuran kemudian dikocok dengan kuat. Terbentuknya warna merah, kuning dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

Uji total fenol

Analisis kandungan total fenol menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dimodifikasi (Sanaka *et al.*, 2005) dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer. Sebanyak 5 ml ekstrak disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, supernatan yang terbentuk disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat kemudian ditera sebanyak 5 ml dalam labu takar, lalu dipipet 0,4 ml ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tabung reaksi tersebut ditambahkan 0,4 ml reagen *Folin-Ciocalteu* dan divorteks, selanjutnya ditambahkan 4,2 ml 5% larutan *sodium* karbonat. Sampel didiamkan selama beberapa menit pada suhu ruang sebelum dibaca serapan warnanya pada panjang gelombang 760 nm. Kurva standar dibuat dengan melarutkan asam galat dalam metanol 85% dengan berbagai konsentrasi 10–100 mgL⁻¹. Perhitungan total fenol dihitung menggunakan rumus persamaan regresi $y = ax + b$, dan dinyatakan sebagai total fenol/gram berat kering.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar air dan total rendemen ekstrak lumut

Hasil pengukuran kadar air lumut segar diketahui sebesar 89,02%, setelah melalui proses pengeringan maka didapat lumut kering dengan kadar air sebesar 17,47%. Pengeringan yang dilakukan pada suhu ruang bertujuan untuk menghindari terjadinya kerusakan kandungan senyawa bioaktif lumut akibat penggunaan panas.

Harborne (2006) menyatakan bahwa penggunaan panas di atas suhu 50°C akan merusak senyawa volatil dari golongan terpenoid dan fenolik dengan berat molekul rendah. Penelitian lainnya dari pengaruh panas yaitu pengujian aktivitas antibakteri kuersetin dan kaemferol dari golongan flavonoid menurun sebesar 48% dan 68% karena pengaruh pemanasan suhu 60°C selama 2 jam (Murcia *et al.*, 2009). Sebelum proses ekstraksi, lumut kering terlebih dahulu dihaluskan menjadi bentuk bubuk. Hal ini bertujuan untuk memperbesar luas permukaan bahan dan menyeragamkan ukuran partikelnya agar mempermudah kontak antara bahan dengan pelarutnya selama proses ekstraksi berlangsung.

Total Rendemen tiap ekstrak yang didapat berbeda-beda, ekstrak metanol menghasilkan rendemen ekstrak paling tinggi yaitu sebesar 15,57%, ekstrak etanol 5,98%, ekstrak etil asetat 2,30%, dan ekstrak heksana 0,87%. Data rendemen tersebut menunjukkan bahwa komponen-komponen dari ekstrak lumut sebagian besar merupakan senyawa polar yang larut dalam pelarut polar. Perbedaan rendemen tiap ekstrak ini disebabkan oleh adanya perbedaan kelarutan senyawa yang diekstrak pada tiap pelarut yang digunakan, sehingga turut mempengaruhi hasil dan karakteristik senyawa kimia yang terekstrak (Harborne, 2006).

Aktivitas antibakteri berbagai ekstrak lumut hati *M. paleacea*

Hasil *screening* aktivitas antibakteri berbagai ekstrak lumut terhadap bakteri uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol lumut merupakan ekstrak dengan aktivitas paling baik, berdasarkan pengukuran terhadap zona hambat (Tabel 1). Data dari Tabel 1 juga menunjukkan bahwa *S. aureus* adalah bakteri yang paling sensitif terhadap semua ekstrak lumut dibandingkan *S. Typhimurium* ATCC 14028, dan *P. aeruginosa*.

Tabel 1. Aktivitas antibakteri berbagai ekstrak lumut pada konsentrasi 100 mg/ml terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 5923, *P. aeruginosa*, dan *S. Typhimurium* ATCC 14028

Ekstrak	Zona Hambat terhadap Bakteri Uji (mm)		
	<i>S. aureus</i> ATCC 5923	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028
Etanol	10,83	4,51	5,81
Metanol	8,00	4,32	3,50
Etil Asetat	8,71	2,00	3,80
Heksana	2,70	-	-

Sensitivitas *S. aureus* ATCC 5923 yang tinggi terhadap ekstrak etanol lumut disebabkan karena struktur dinding selnya. Bakteri Gram positif seperti *S. aureus* tidak memiliki membran luar seperti yang dimiliki kebanyakan bakteri Gram negatif. Disamping itu *S. aureus* memiliki dinding sel yang bersifat hidrofobik pada bagian luarnya, sehingga konsentrasi rendah dari ekstrak lumut (<1 mg/ml) akan dapat membunuh seluruh bakteri *S. aureus* (Madigan *et al.*, 2009).

Bachir *et al.* (2012) menyatakan bahwa bakteri Gram positif seperti *S. aureus* memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal tanpa adanya membran luar. Adanya aktivitas senyawa fenolik akan dengan mudah menyebabkan kerusakan pada dinding dan membran sel sehingga akan mengganggu sistem transpor aktif. Peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel terdiri dari turunan gula yaitu asam N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramat serta asam amino L-alanin, D-alanin, D-glutamat, dan lisin. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung 90% peptidoglikan, sedangkan pada bakteri Gram negatif mengandung hanya 5-20% peptidoglikan, tetapi memiliki lapisan luar kedua yang disebut lapisan lipopolisakarida (LPS) yang tersusun oleh fosfolipid, polisakarida dan protein (Madigan *et al.* 2009). Asakawa *et al.* (2009) melaporkan bahwa faktor penting dari aktivitas antibakteri ekstrak lumut *M. polymorpha* terutama disebabkan oleh komponen Marchantin A. Marchantin A adalah suatu senyawa fenolik sederhana yang dimiliki oleh semua jenis lumut *Marchantia*. Untuk mendapatkan 120 senyawa ini dalam bentuk murni dibutuhkan sebanyak 6,67 kg lumut *M. paleacea* kering.

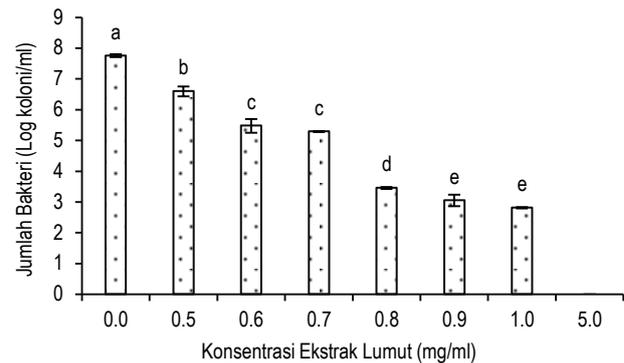
Sebagian besar antibakteri asal tumbuhan diketahui merupakan metabolit sekunder yang teridentifikasi sebagai golongan fenolik dan terpenoid dalam fraksi minyak atsiri (Harborne, 2006). Mekanisme antibakteri senyawa fenolik dan terpenoid adalah merusak struktur dinding sel dan mengganggu kerja transpor aktif dan kekuatan proton di dalam membran sitoplasma bakteri. Selanjutnya senyawa tersebut akan mendenaturasi dan menginaktivkan protein seperti enzim sehingga mempengaruhi metabolisme sel (Ruiz *et al.*, 2012).

Daya hambat ekstrak etanol lumut *M. paleacea* terhadap bakteri uji

Berdasarkan data dari zona hambat (Tabel 1), maka hanya ekstrak etanol lumut yang digunakan dalam uji lanjut karena mempunyai aktivitas antibakteri paling baik diantara ekstrak lainnya. Untuk menentukan nilai MIC maka perhitungan dibandingkan berdasarkan inokulum awal bakteri uji (Hancock *et al.*, 2008). Gambar 2 menunjukkan pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol lumut terhadap *S. aureus* ATCC 5923, dengan inokulum awal bakteri sebesar 6,30 log koloni/ml. Setelah mengalami pengontakkan, maka nilai MIC ekstrak etanol lumut terhadap *S. aureus* ATCC 5923 didapat pada konsentrasi 0,7 mg/ml, dengan jumlah akhir bakteri 5,29 log koloni/ml.

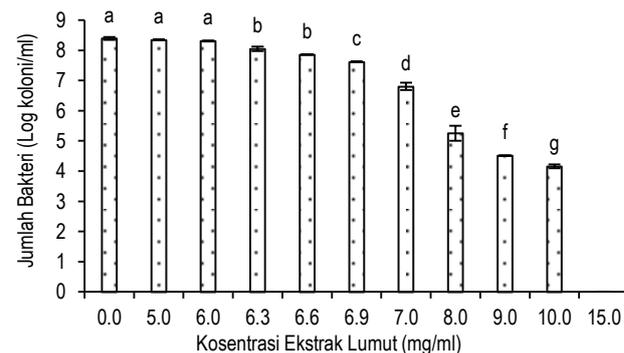
Beberapa penelitian serupa, terhadap pengujian aktivitas antibakteri ekstrak *M. polymorpha* menunjukkan hasil yang beragam. Asakawa (2008), Mewari dan Kumar (2008) dan Sabovljevi *et al.* (2010) dalam penelitiannya melaporkan bahwa nilai MIC dari ekstrak diperoleh adalah sebesar 25 µm/ml, 0,3 mg/ml, dan 2,0 mg/ml terhadap *S. aureus*. Xiao *et al.* (2005)

juga melaporkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak lumut *M. Convolvata* terhadap *S. aureus* dengan nilai MIC sebesar 0,63 mg/ml. Ekstrak etanol mengandung molekul-molekul yang bersifat hidrofilik dibandingkan hidrofobik. Bakteri Gram positif seperti *S. aureus* tidak mempunyai lapisan lipopolisakarida (LPS) sehingga senyawa antibakteri yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik dapat dengan mudah melewati dinding sel. Kerusakan yang terjadi pada dinding, membran, dan bagian internal sel akan menyebabkan bakteri tidak dapat menahan tekanan osmotik tinggi dari dalam sel sehingga mengakibatkan sel menjadi lisis (CDC, 2008).



Gambar 2. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol lumut terhadap *S. aureus* ATCC 5923 dengan inokulum awal 6,30 log koloni/ml. Huruf yang berbeda pada setiap faktor perlakuan menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji $p = 0,05$

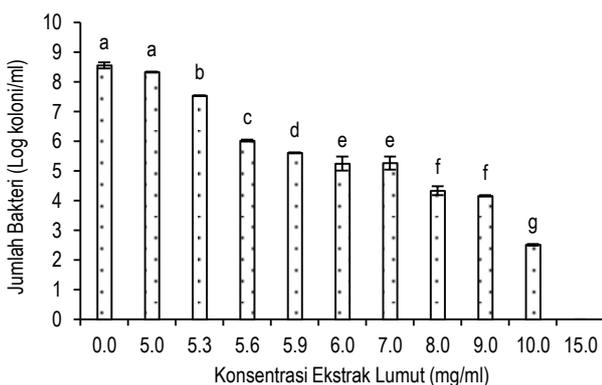
Gambar 3 menunjukkan pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol lumut terhadap *S. Typhimurium* ATCC 14028 dengan inokulum awal bakteri sebesar 7,23 log koloni/ml. Setelah dikontakkan dengan ekstrak maka nilai MIC diperoleh pada konsentrasi 8,0 mg/ml dengan jumlah bakteri akhir adalah 5,29 log koloni/ml.



Gambar 3. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol lumut terhadap *S. Typhimurium* ATCC 14028 dengan inokulum awal 7,23 log koloni/ml. Huruf yang berbeda pada setiap faktor perlakuan menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji $p = 0,05$

Pengujian daya hambat ekstrak etanol lumut terhadap *S. Typhimurium* ATCC 14028 dan *P. aeruginosa* menggunakan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan *S. aureus*.

Hal ini karena perbedaan tingkat sensitifitas dari masing-masing bakteri disebabkan oleh perbedaan pada struktur dinding sel antara bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol lumut terhadap *P. aeruginosa* ditunjukkan pada Gambar 4, dengan inokulum awal bakteri adalah 6,81 log koloni/ml. Setelah dilakukan uji kontak dengan berbagai konsentrasi ekstrak maka diperoleh nilai MIC sebesar 5,9 mg/ml dengan jumlah bakteri akhir 5,61 log koloni/ml. Data MIC antara kedua bakteri uji Gram negatif menunjukkan bahwa *P. aeruginosa* lebih sensitif terhadap ekstrak etanol lumut dibandingkan *S. Typhimurium* ATCC 14028. Adanya perbedaan nilai MIC tersebut diduga disebabkan karena perbedaan spesifik pada kedua membran luarnya, seperti ukuran porin. Porin adalah sebuah molekul protein yang mengatur keluar masuk senyawa-senyawa tertentu ke dalam sel, serta memudahkan difusi pasif senyawa hidrofilik dengan berat molekul rendah seperti glukosa, asam amino, dan ion-ion tertentu (Moat *et al.*, 2002). Setiap bakteri Gram negatif mempunyai porin, tetapi dengan ukuran dan berat porin yang berbeda. *S. Typhimurium* mempunyai berat molekul protein porin lebih kecil yaitu 600 kda dibandingkan *P. aeruginosa* sebesar 3000 kda. Protein porin PAO1 pada *P. aureginosa* berukuran 2 nm, lebih besar dibanding protein porin *S. Typhimurium* dengan diameter 1,4 nm (Benz, 2004).



Gambar 4. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol lumut terhadap *P. aeruginosa* dengan inokulum awal 6,81 log koloni/ml. Huruf yang berbeda pada setiap faktor perlakuan menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji $p = 0,05$

Beberapa penelitian sebelumnya juga menunjukkan hasil yang beragam. Asakawa (2007) melaporkan nilai MIC ekstrak lumut *Marchantia* sp. terhadap *P. aeruginosa* dan *S. Typhimurium* sebesar 0,1 mg/ml. Tetapi, Xiao *et al.* (2005) melaporkan tidak adanya pengaruh ekstrak lumut *M. convoluta* yang diuji terhadap *P. aeruginosa*. Komponen penyusun membran luar *P. aureginosa* adalah asam lemak tidak jenuh, yang dapat berubah bentuk dari trains ke bentuk sis. Apabila perubahan ini terjadi, maka senyawa antibakteri yang bersifat hidrofilik akan lebih mudah masuk ke dalam sel. Senyawa hidrofilik golongan fenolik akan merusak sel bakteri dengan cara mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran bahan-bahan intraseluler, serta dapat menginaktivkan dan mendenaturasi protein seperti enzim. Terjadinya kerusakan pada membran berakibat terhambatnya aktivitas dan

biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme (Rehm, 2008).

Aktivitas senyawa antibakteri ekstrak etanol lumut diduga bereaksi pada dinding sel bakteri dan merusak komponen fosfolipid pada membran sel. Selanjutnya senyawa antibakteri akan berdifusi melalui membran sitoplasma dan mempengaruhi materi genetik dalam sel.

Kandungan senyawa bioaktif dan total fenol lumut hati *M. paleacea*

Senyawa fenolik dan terpenoid adalah komponen terpenting yang terkait dengan sifat antibakteri ekstrak lumut. Oleh karena itu, uji kualitatif yang dilakukan merupakan tahap awal untuk mengetahui keberadaan suatu senyawa antibakteri. Tabel 2 menunjukkan hasil analisis kualitatif kandungan ekstrak etanol lumut. Komponen-komponen senyawa kimia seperti fenolik, steroid, triterpenoid, tannin, dan flavonoid diketahui positif keberadaannya.

Tabel 2. Komponen ekstrak etanol

Komponen	Keberadaan
Fenolik	+
Steroid	+
Triterpenoid	+
Tanin	+
Flavonoid	+

Keterangan: + (positif) ada

Asakawa (2007) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak *Marchantia* dipengaruhi kuat oleh Marchantin A, yaitu suatu senyawa fenolik sederhana. Oleh karena itu, dalam pengujian kuantitatif pengukuran hanya dilakukan terhadap senyawa fenolik. Hasil pengukuran total fenol ekstrak etanol lumut adalah sebesar 22 mg/g berat kering. Senyawa fenolik merupakan substansi yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil sehingga sifatnya mudah larut dalam pelarut polar.

Asakawa (2004) melaporkan bahwa sebagian besar lumut *Marchantia* sp. kaya akan senyawa fenolik dan terpenoid, terutama jenis mono-, sesqui-, dan diterpenoid, senyawa-senyawa lipofilik aromatis (bibenzil, bisbibenzil, benzoat, sinamat, alkil fenol rantai panjang, naftalen, isokumarin) dan asetogenin. Umumnya senyawa-senyawa tersebut larut dalam pelarut organik yang bersifat polar (Niu *et al.*, 2006). Hal ini memberi dugaan bahwa kemungkinan ekstrak ini nantinya dapat digunakan dalam produk olahan minuman, serta dapat digunakan sebagai bahan sanitaisier untuk pangan.

KESIMPULAN

Aktivitas ekstrak etanol lumut hati mempunyai antibakteri tertinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana. Pengukuran zona hambat ekstrak etanol terhadap *S. aureus* ATCC 5923, *S. Typhimurium* ATCC 14028, dan *P. aeruginosa* berturut-turut adalah 10,8 mm, 5,8 mm, dan 4,5 mm. Untuk nilai MIC ekstrak etanol terhadap *S. aureus* ATCC 5923, *S. Typhimurium* ATCC 14028, dan *P. aeruginosa* berturut-turut adalah 0,7 mg/ml, 8,0 mg/ml, dan 5,9 mg/ml. Ekstrak etanol lumut memiliki kecenderungan sifat antibakteri lebih baik

terhadap *S. aureus* ATCC 5923. Kandungan senyawa fenolik, triterpenoid, flavonoid diketahui positif ada dengan kandungan total fenol sebesar 22 mg/g. Data hasil penelitian menunjukkan bahwa komponen antibakteri dari ekstrak lumut sebagian besar merupakan senyawa polar yang larut dalam pelarut polar. Kemungkinan aplikasi ekstrak pada produk pangan dapat digunakan dalam produk-produk olahan minuman. Tetapi mengingat belum banyaknya data pendukung yang dibutuhkan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa kimia dan uji toksisitas ekstrak.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Cibodas, Bogor, atas penyediaan tumbuhan Lumut Hati (*Marchantia paleacea*).

DAFTAR PUSTAKA

- Antunes P, Réu C, Sousa JC, Peixe L, Pestana N. 2003. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *Inter J Food Microb* 82: 97-103. DOI: [10.1016/S0168-1605\(02\)00251-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00251-9).
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists International. 2007. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th Edition. Arlington VA. USA.
- Asakawa Y, Ludwiczuk A, Nagashima F, Toyota, M, Hashimoto T, Tori M, Fukuyama Y, Harinantenaina L. 2009. Bryophytes: bio- and chemical diversity, bioactivity and chemosystematics. *Int J for Reviews and Communications in Heterocyclic Chem* 77: 95-150. DOI: [10.3987/REV-08-SR\(F\)3](https://doi.org/10.3987/REV-08-SR(F)3).
- Asakawa Y. 2004. Chemosystematics of the hepaticae. Tokushima Japan. *Phytochem* 65: 623-669. DOI: [10.1016/j.phytochem.2004.01.003](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.01.003).
- Asakawa Y. 2007. Biologically active compounds from bryophytes. *Pure Appl Chem* 79: 557-580. DOI: [10.1351/pac200779040557](https://doi.org/10.1351/pac200779040557).
- Asakawa Y. 2008. Liverworts-potential source of medicinal compounds. *Curr Pharm Des* 14: 3067-3088. DOI: [10.2174/138161208786404272](https://doi.org/10.2174/138161208786404272).
- Bachir GR, Benali M. 2012. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J of Tropic Biomed* 2: 739-742. DOI: [10.1016/S2221-1691\(12\)60220-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60220-2).
- Benz R. 2004. Bacterial and Eukaryotic Porins. Structure, Function, Mechanism. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. DOI: [10.1002/3527603875](https://doi.org/10.1002/3527603875).
- Bodade RG, Borkar PS, Arfeen S, Khobragade CN. 2008. *In vitro* screening of bryophytes for antimicrobial activity. *J of Med Plants* 7: 23-28.
- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2008. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. http://www.cdc.gov/hicpac/Disinfection_Sterilization/4_0efficacyDS.html. [16 November 2012]
- Harborne JB. 2006. Metode Fitokimia. Terjemahan: Kosasih Patmawinata dan Iwang Soediro. Edisi kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Heredia N, Wesley I, Garcia S. 2009. Microbiologically Safe Foods. New Jersey. John Wiley and Sons. DOI: [10.1002/9780470439074](https://doi.org/10.1002/9780470439074).
- Ilhan S, Savaroulu S, Colak F, Iscen CF, Erdemgil ZF. 2006. Antimicrobial activity of palustriella commutata (Hedw.) ochrya extracts (Bryophyta). *J Biol* 30: 149-152.
- Kumar P, Chaudhary LB. 2010. Antibacterial activity of moss *Endodon myurus* (Hook) Hamp. against some pathogenic bacteria. The Bioscan. *International J of Live Sci* 5: 605-608.
- Madigan MT, Martinko JM, Dunlap VP, Clark PD. 2009. Biology of Microorganisms. 12th Edition. Southern Illinois University Carbondale.
- Mewari N, Kumar P. 2008. Antimicrobial activity of extracts of *Marchantia polymorpha*. *Pharma Bio* 46: 819-822. DOI: [10.1080/13880200802315725](https://doi.org/10.1080/13880200802315725).
- Moat AG, Foster JW, Spector MP. 2002. Microbiol Physiology. Ed 4. New York: John Wiley and Sons. DOI: [10.1002/0471223867](https://doi.org/10.1002/0471223867).
- Murcia MA, Jiménez AM, Tomé MM. 2009. Vegetables antioxidant losses during industrial processing and refrigerated storage. *J Food Res* 42: 1046-1052. DOI: [10.1016/j.foodres.2009.04.012](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.04.012).
- Niu C, Qu BJ, Lou XL. 2006. Antifungal Bis[bibenzyls] from the Chinese Liverwort *Marchantia polymorpha* L. School of Pharmaceutical Sciences. Shandong University. China.
- Rehm AHB. 2008. Pseudomonas: Model Organism, Pathogen, Cell factory. Wiley-VCH.
- Ruiz AG, Cueva C, Rompinelli EMG, Yuste M, Torres M, Álvarez PJM, Bartolomé B, Arribas MVM. 2012. Antimicrobial phenolic extracts able to inhibit lactic acid bacteria growth and wine malolactic fermentation. *J Food Cont* 28: 212-219. DOI: [10.1016/j.foodcont.2012.05.002](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.002).
- Sabovljevi A, Sokovic M, Glamoclija J, Ciric A, Vujicic M, Pejic B, Sabovljevic M. 2010. Comparison of extract bio-activities of *in-situ* and *in vitro* grown selected bryophyte species. *Afr Microb Research* 4: 808-812.
- Sanaka S, Tachibana Y, Okada Y. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese Persimmon Leaf Tea (kakinoha-cha). *J Food Chem* 89: 569-575. DOI: [10.1016/j.foodchem.2004.03.013](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.013).
- Suliantari, Jenie BSL, Suhartono MT, Apriyantono A. 2008. Antibakteri ekstrak sirih hijau (*Piper betle* L) terhadap bakteri patogen pangan. *J Teknol dan Industri Pangan* 19: 1-7.
- Xiao JB, Jiang X, Chen QX. 2005. Antibacterial, anti-inflammatory and diuretic effect of flavonoid from *Marchantia convoluta*. *Afr J Trad Cam* 2: 244-252.
- Xiao JB, Chen XQ, Zhang YW, Jiang XY, Xu M. 2006. Cytotoxicity of *Marchantia convoluta* leaf extracts to human liver and lung cancer cells. *Brazilian Med and Bio Research* 39: 731-738. DOI: [10.1590/S0100-879X2006000600005](https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006000600005).