

Potensi Senyawa Bioaktif Bajakah *Spatholobus littoralis* Hassk Sebagai Antimikroba Dengan Cara *In-Vitro* dan *In-Silico*

Alif Rahman Habibi¹, Eva Johannes¹, Sulfahri¹

¹*Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Hasanuddin, Makassar
E-mail: alifrahman394@gmail.com*

Abstract

*Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) is a plant originating from the forests of Kalimantan which contains compounds in the form of alkaloids that act as antimicrobials. The purpose of this study was to determine the activity of *Spatholobus littoralis* Hassk as an antibacterial. The in-silico method was carried out using a bioinformatics-based tool and antibacterial testing using the well method, this is because testing with the pitting method is more effective because the extract reacts directly with the test bacteria. Observations on *S. aureus* bacteria for 1x24 hours with a concentration of 12.5% formed an inhibition zone of 13.25 mm, a concentration of 25% formed an inhibitory power of 14.10 mm, and a concentration of 50% formed an inhibition zone of 15.4 mm. At 2x24 hours observation with a concentration of 12.5% formed an inhibitory zone of 13.625 mm, a concentration of 25% formed an inhibitory power of 14.50 mm, and for a concentration of 50% formed an inhibitory power of 15.70 mm. Meanwhile, *E.coli* bacteria do not form a clear zone so they do not have antibacterial properties.*

Keywords: antimicrobial, *E.coli*, pitting method, *S. aureus*, *Spatholobus littoralis* Hassk

PENDAHULUAN

Dalam bidang pengobatan, eksplorasi senyawa-senyawa baru dari alam terus dilakukan untuk mendapatkan bahan obat baru untuk mengatasi *multidrugs* resisten terhadap penggunaan obat-obatan seperti antibiotik. Antibiotik adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang bersifat toksik terhadap mikroorganisme lain, sehingga antibiotik digunakan sebagai obat untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri. Namun, penggunaan antibiotik memiliki efek samping. Penggunaan antibiotik secara terus menerus dapat menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Menurut *world health organization* resistensi antibiotik adalah proses mutasi organisme (bakteri, jamur, virus, dan parasite) yang terpapar obat antibiotik, sehingga menyebabkan infeksi terus berlanjut. Setiap tahun didapatkan hampir 500,000 bakteri yang resistensi terhadap antibiotik (Pusporini, 2019). Penggunaan bahan alam sebagai antibiotik diharapkan dapat mengurangi resistensi dan tidak menimbulkan efek samping. Antimikroba adalah senyawa-senyawa yang dapat menghambat

pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme. Senyawa tersebut menyebabkan terjadinya denaturasi pada membran sel bakteri, sehingga mempengaruhi difusi senyawa keluar masuk. Akibatnya terjadi lisis pada bakteri tersebut, sehingga menghambat pertumbuhannya (Putri & Febrianto, 2018).

Bakteri merupakan salah satu mikroba yang paling sering berperan dalam berbagai penyakit. Menurut Huda (2017) bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) penyebab infeksi kulit dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*) penyebab diare. Dampak yang ditimbulkan oleh kedua mikroba tersebut merupakan masalah yang sangat sering ditemukan dalam kehidupan masyarakat. Hal ini menjadi landasan untuk dilakukannya penelitian terhadap potensi bajakah *Spatholobus litoralis* Hassk sebagai bahan baku penghasil senyawa antimikroba, khususnya pada bakteri *Escherichia coli* dari jenis bakteri gram negatif dan bakteri *Staphylococcus aureus* dari golongan bakteri gram positif.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah terpal, *balf*, botol coklat, aluminium foil, alat destilasi pelarut, corong, gelas kimia, sendok tanduk, masker, gelas kimia, *rotary evaporator*, labu alas bulat, pipet tetes, spatula, cawan petri, ose bulat, tabung reaksi, erlenmeyer, lampu, termometer, botol duran, botol vial, oven, sikat tabung, sponse busa, inkubator, mikropipet, enkas, kamera, bunsen dan sarung tangan medis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bajakah, alkohol 70%, metanol, kertas saring, media MHA, aqudest, isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *chloromphenicol*.

Penyiapan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Kalimantan Selatan. Sampel di cuci dengan air keran yang telah dicampur dengan alkohol 70% dengan perbandingan 1:3, dilakukan pencucian dengan alkohol. Penjemuran dilakukan dengan cara dikeringkan di dalam ruangan yang agak panas dan tidak terkena sinar matahari langsung. Selanjutnya untuk mengekstrak senyawa pada bajakah dilakukan dengan metode maserasi.

Uji Fitokimia

Uji flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak kental metanol 0.1 gr diencerkan dengan menggunakan metanol 10 mL dan dibagi menjadi 4 tabung reaksi yang berbeda. Tabung pertama sebagai kontrol, tabung kedua ditambahkan lempengan Mg dan larutan HCl pekat, tabung ketiga ditambahkan H₂SO₄ pekat, tabung keempat ditambahkan NaOH pekat. Hasil uji positif flavonoid jika terjadi perubahan warna larutan. Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak kental metanol sebanyak 0.1 gr dilarutkan dengan 10 mL kloroform amoniak lalu hasilnya dibagi menjadi dua bagian yang sama. Untuk bagian pertama ditambahkan asam sulfat (H₂SO₄) 2 N perbandingan volumenya sama. Lapisan asam diambil dan dibagi menjadi tiga bagian dan dilakukan pengujian menggunakan pereaksi fitokimia yaitu pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, dan pereaksi Wagner. Untuk bagian kedua diuji menggunakan pereaksi Hager. Hasil uji positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan.

Uji steroid, saponin, dan terpenoid dilakukan dengan cara ekstrak kental metanol 0.1 g, dilarutkan dalam 10 mL dietil eter. Bagian ekstrak yang larut dalam dietil eter diberi perlakuan uji dengan menggunakan pereaksi Lieberman Bauchard. Terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid, sedangkan warna merah kecoklatan menunjukkan uji ini positif mengandung terpenoid. Bagian yang tidak larut dalam dietil eter, diuji dengan cara menambahkan akuades panas sebanyak 2 mL. Hasil menunjukkan adanya saponin, jika setelah penambahan akuades panas terbentuk busa yang stabil (15 menit setelah penambahan akuades panas). Filtrat yang berada dibagian bawah busa diambil lalu ditambahkan HCl pekat, dilakukan proses penguapan hingga kering dan terbentuk kerak. Dilanjutkan dengan uji menggunakan pereaksi Lieberman Bauchard. Jika

terdapat warna hijau kebiruan menunjukkan adanya kandungan senyawa steroid. Untuk pembentukan warna merah kecoklatan menunjukkan adanya senyawa terpenoid.

Uji *In-Silico*

Persiapan struktur kimia daun bajakah *Spatholobus litoralis* Hassk yang didapatkan dari uji Gs-Ms, Struktur 3D dan Conical SMILES dari senyawa di dapatkan dari bank data PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur senyawa diunduh dalam format SDF dan diubah dalam format PDB menggunakan aplikasi BIOVIA Discovery. Identifikasi protein target diperoleh dari literature kemudian di validasi dengan menggunakan Uniprot (<https://www.uniprot.org/>). Struktur protein target didapatkan melalui (www.rcsb.org) dan diunduh dalam format PDB. Docking molekular dilakukan dengan menggunakan software PyRx 0.8, Interaksi antara reseptor dan ligan dianalisis oleh Auto Dock *Vina Wizard*, metode ini dilakukan untuk mengevaluasi ikatan afinitas antara reseptor dan ligan. Interaksi antara protein target dan ligan divisualisasikan menggunakan aplikasi PyMol. Tes keserupaan obat dilakukan dengan menggunakan ADMET (*Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion*) digunakan untuk memprediksi penyerapan, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas senyawa tertentu. Nilai keseragaman obat diperoleh dengan menggunakan data dari bank data SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) untuk menentukan keseragaman obat yang terkandung dan menyesuaikannya dengan Aturan Lipinski rule of Five.

Uji Antimikroba

Kontrol positif menggunakan *chloramphenicol* dengan menggunakan metode sumuran dan kontrol negatif adalah akuades. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode sumuran. Pada pengujian aktivitas antimikroba ini, media yang digunakan adalah MHA. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 12.5%; 25%; 50%. Isolasi bakteri uji terlebih dahulu ke agar miring selama 1x24 jam, hal ini dilakukan untuk meremajakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. coli*. Setelah itu, dibuat media dalam cawan petri membentuk lubang seperti sumur. Selanjutnya diberikan ekstrak bajakah pada masing-masing konsentrasi di setiap sumuran. Inkubasi selama 2x24 jam dan selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona bening menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia dan *In-Silico*

Pada penelitian uji *in-silico*, senyawa yang digunakan adalah *3-piperidinol* dan *cianoacetyl urea* karena merupakan turunan dari alkaloid. Menurut Tietze (2015) bahwa *cianoacetyl urea* termasuk dalam golongan alkaloid dan menurut Rahman (2014) *3-pepridinol* termasuk dalam alkaloid.

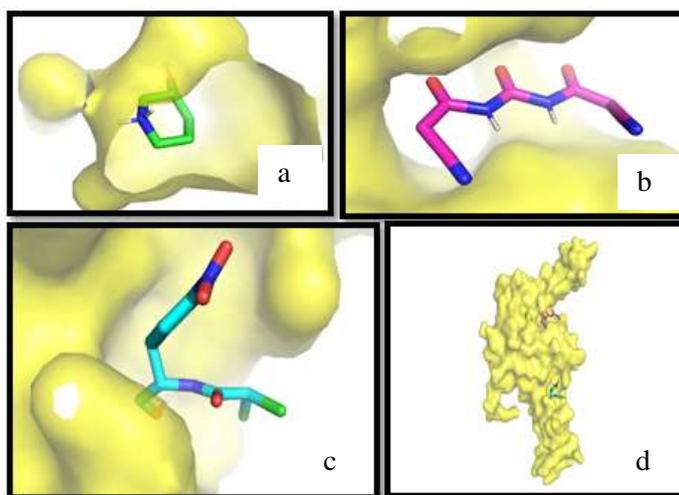
Tabel 1. Uji Kandungan Fitokimia

No.	Uji Fitokimia	Hasil Uji
1.	Alkaloid	+
	a. Dragendorff	+
	b. Mayer	-
2.	Flavonoid	+
	a. Timbal asetat	+
	b. Serbuk Mg	-
3.	Terpenoid	-
4.	Saponin	+
5.	Fenolik	+

Pada pengujian antimikroba kontrol positif yang digunakan yaitu *chlomphenicol* dan ligan pada antimikroba adalah *ClpP protease*.

Tabel 2. Hasil *Reverse Docking* Antimikroba

No.	Ligand	Protein Target	Binding Afinity
1.	3-Pepiridinol	ClpP protease	-4.4
2.	Cyanoacetyl urea	ClpP protease	-5.0
3.	Choromphenicol	ClpP protease	-5.9



Gambar 1. a) *3-Pepiridinol* berikatan dengan *ClpP protease*, b) *Cyanoacetyl* berikatan dengan *ClpP protease*, c) *Chloromphenicol* berikatan dengan *ClpP protease*, (d) Hasil *docking* antimikroba.

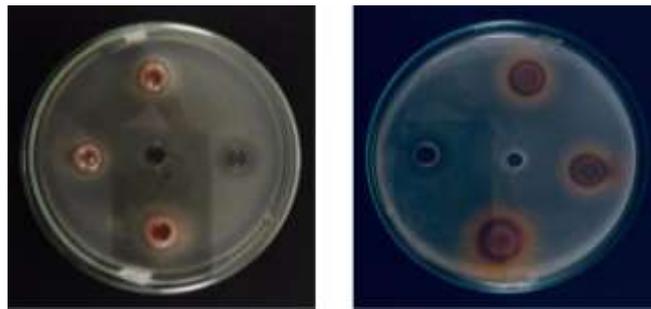
Menurut Saputri, dkk., (2016), *binding affinity* merupakan ukuran kemampuan senyawa untuk berikatan dengan reseptor. Semakin kecil nilai *binding affinity*, maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya jika semakin besar nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor semakin rendah. Pada hasil *docking* dari simulasi komputer yang dilakukan menunjukkan nilai *binding affinity* pada senyawa *3 pepiridinol* yaitu -4.4 dan pada *cyanoacetyl urea* -5.0. Pada penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa *cyanoacetyl urea* lebih kuat berikatan dengan *ClpP protease* dibandingkan *3-pepiridinol*.

Anti Mikroba

Pada penelitian ini menggunakan metode sumuran karena pada metode sumuran ekstrak langsung berinteraksi dengan bakteri tersebut sehingga hasilnya lebih baik (Arirahmayanti, dkk., 2019). Uji anti mikroba dilakukan menggunakan bakteri *Staphylacoccus aureus* mewakili bakteri gram positif dan *Escherichia coli* mewakili bakteri gram negatif (Nurhayati, dkk., 2020).

Bakteri *Staphylacoccus aureus*

Berikut hasil uji antimikroba terhadap bakteri *Staphylacoccus aureus*.



Gambar 2. a) *S. aureus* 1 x 24 jam, b) *S. aureus* 2x24 jam.

Pada penelitian konsentrasi yang digunakan pada masing-masing bakteri uji adalah 12.5%; 25%; 50%. pada pengamatan 24 jam dengan konsentrasi 50%, ukuran zona hambat sebesar 15.45 mm, konsentrasi 25% sebesar 14.10 mm dan konsentrasi 12.5% sebesar 13.25 mm. Pada pengamatan 48 jam konsentrasi 50% ukuran zona hambat sebesar 15.70 mm konsentrasi 25% sebesar 14.50 mm dan konsentrasi 12.5% sebesar 13.625 mm hal ini dapat terlihat pada tabel dibawah ini,

Tabel 3. Uji Daya Hambat terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Ekstrak	Diameter Hambat 24 jam	Diameter Hambat 48 jam
12,5%	13.25 mm	13.625 mm
25%	14.10 mm	14.50 mm
50%	15.45 mm	15.70 mm
Kontrol positif	14.15 mm	14.15 mm
Kontrol negatif	0 mm	0 mm

Pada pengujian GS-MS ekstrak bajakah *Spatholobus littoralis* hassk di temukan senyawa steroid, fenolik, terpenoid, vitamin C, dan alkaloid. Pada penelitian uji antimikroba pada *Staphylococcus aureus* bersifat bakterisida. Hal ini ditunjukkan melalui pengmatan 1x24 jam memberikan hambat seluas 15.45 mm dengan konsentrasi 50%; konsentrasi 25% sebesar 14.10 mm; dan konsentrasi 12.5% sebesar 14.25 mm. Pada pengamatan 2x24 jam mengalami sedikit pertambahan ukuran zona hambat yaitu 15.70 mm dengan konsentrasi 50%; konsentrasi 25% sebesar 14.50; dan konsentrasi 12.5% sebesar 13.625 mm. Pada hasil uji *in-silico*, afinitas senyawa yang dari bajakah *Spatholobus littoralis* Hassk memperlihatkan afinitas yang tinggi (Saputi, 2016), sehingga bakteri *Staphylacoccus aureus* mengalami kematian. Pada pengujian antimikroba terdapat kategori zona hambat berdasarkan diameternya. Apabila diameter 5 mm maka kekuatan daya hambatnya tergolong lemah, termasuk sedang jika 6-10 mm, jika 11-20 mm maka tergolong kuat, dan jika diatas 20 mm maka tergolong sangat kuat (Safrida & Rahmah, 2021). Diketahui pada penelitian yang dilakukan menunjukkan angka 11-20 mm, maka dapat disimpulkan bahwa pengujian daya hambat antimikroba tergolong kuat berdasarkan diameternya.

Bakteri *Escherechia coli*

Penelitian uji antimikroba *Escherechia coli* dilakukan dengan metode sumuran. Pertama dilakukan pembuatan media pertumbuhan bakteri setelah itu bakteri uji dimasukkan pada media yang masih cair menggunakan mikropipet. Pada pengujian ekstrak bajakah yang dilakukan terhadap bakteri *Escherechia coli* tidak membentuk zona bening. Menurut Kaseng, dkk., (2016) kurangnya kadar senyawa yang terdapat pada ekstrak tidak cukup merusak membran sel bakteri sehingga bakteri masih bisa memperbanyak selnya. Selain itu struktur dinding sel bakteri *Escherechia coli* berbeda dengan

dinding sel dari sel *Staphylococcus aureus*. Menurut Prasetya (2018), *E. coli* juga sering sulit dalam hal pengobatan infeksiya dikarenakan kemampuannya dalam memproduksi enzim *extended spectrum beta lactamases* (ESBLs). ESBLs merupakan enzim yang mampu menghidrolisis golongan senyawa beta laktam generasi ketiga, dan keempat, serta monobaktam (aztreonam), sehingga diduga kandungan senyawa dari bajakah tidak mampu menghambat pertumbuhan *E.coli*.



Gambar 3. Hasil Uji Daya Hambat terhadap Bakteri *Escherechia coli*

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak bajaka *Spatholobus littoralis* Hassk yang berasal dari Kalimantan Selatan bersifat bakteriosida terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan tidak bersifat antibakteri pada *Escherechia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arirahmayanti I.A.E., I.G.A Artini dan D.K Ernawati, 2019. *Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kunyit (Curcuma longa) dan Bawang Putih (Allium sativum) terhadap Escherichia coli ATCC 8739*. Jurnal Medika Udayana.
- Huda, M., 2019. *Pengaruh Madu Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif Staphylococcus aureus dan Bakteri Gram Negatif Escherichia coli*. Jurnal Analis Kesehatan.
- Kaseng, E. S., Muhliah, N., dan Irawan, S., 2016. *Uji Daya Hambat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Uji Staphylococcus aureus dan Escherechia coli Ekstrak Etanol Daun Mangrove Rhizophora mucronate dan Efek Antidiabetes Pada Mencit Yang Diinduksi Alokson*. Universitas Negeri Makassar.
- Nurhayati L. S., Yahdiyani, N., dan Hidayatulloh, A., 2020. *Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram*. Jurnal Teknologi Hasil Peternakan.
- Prasetya, Y. A., 2018. *Deteksi Gen SHV Pada Isolat Klinik Escherichia Coli Penghasil Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) dari Urin Pasien*. Al Kaunyah Journal, 11(2): 91–98.
- Pusporini, R., 2019. *Antibiotik Kedokteran Gigi Pedoman Peraktis Bagi Dokter Gigi*. UB Press, Brawijaya, Malang.
- Putri, W. D. R., dan Febrianto, K., 2018. *Rempah Untuk Pangan dan Kesehatan*. UB Press, Brawijaya, Malang.
- Rahman, A. U., 2014. *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier Science.

- Safrida, Y. D., dan Rahmah, R., 2021. *Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Bandotan Ageratum conyzoides L. Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Jurnal Sains dan Kesehatan Darussalam. 1(1): 17-23.
- Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., dan Santoso, B., 2016. *Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina*. Chimica et Natura Acta. 4(1): 16-20.
- Tietze, L. F., Eicher, T., Diederichsen, A., Speicher, N., and Schutzenmeister, 2015. *Reaction and Syntheses In The Organic Chemistry Laboratory*. Wiley.