

AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Eschericia coli* PADA MINYAK ATSIRI BATANG GENOAK (*Acorus calamus*) ASAL PULAU TIMOR

Sherlly M. F. Ledoh*, Reiner I. Lerrick, Debora Ratu

Jurusan Kimia, Fakultas sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, Kupang-NTT
email: sherlly305@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan uji aktivitas antibakteri *Eschericia coli* (*E. coli*) minyak batang genoak (*Acorus calamus*). Penelitian ini dilakukan melalui destilasi uap batang genoak yang diikuti analisis komposisi kimianya menggunakan GC-MS, dan uji antibakteri terhadap bakteri *E. coli* menggunakan metode hitung cawan. Hasil penelitian diperoleh minyak genoak dengan rendemen 0,17% dan asaron sebagai komponen utama minyak genoak sebesar 89,81%. Minyak genoak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* sebesar 95,76% pada kosentrasi 10% (v/v).

Kata kunci : Destilasi uap, Batang Genoak (*Acorus calamus*), *E. coli*, Asaron.

THE ANTI *Eschericia coli* STUDY OF GENOAK(*Acorus calamus*) OIL FROM TIMOR

ABSTRACT

The study of anti *Eschericia coli* (*E. coli*) of genoak oil (*Acorus calamus*) has been done. The research aimed to emerge the potential characteristic of genoak oil which distilled from its stem part. The anti bacterial study was done using plate count method, whilst the chemical compound contained in the oil was investigated using GC-MS. The research result show that asaron in the major compound in stem part of genoak i.e. 89.81%. The genoak oil inhibited 95.76% of the *E. coli* growth at 10% (v/v) of its concentration.

Key words : Water Distillation, Genoak Stem, *E. coli*, Asaron.

PENDAHULUAN

Di Asia Tenggara, khususnya Indonesia merupakan negara yang kaya keanekaragaman tanaman aromatik. Indonesia menduduki peringkat tertinggi dalam perdagangan untuk sejumlah minyak atsiri. Beberapa jenis tanaman aromatik yang dapat menghasilkan minyak atsiri antara lain sereh, cengkeh, kenanga, cendana.

Salah satu jenis tanaman aromatik yang potensial dan telah dikembangkan

adalah tanaman *Acorus calamus* atau dikenal juga dengan nama lokal Jeringau/deringu (Sunda), Dlingo (Jawa), Genoak (Timor), Jangu (Bali). Di pulau Timor, tanaman Genoak khusus bagian batangnya telah digunakan sebagai obat tradisional yaitu untuk mengobati sakit perut, masuk angin dan lain-lain. Tanaman genoak dibudidayakan secara tradisional sehingga belum dapat meningkatkan perekonomian

masyarakat Indonesia khususnya pulau Timor.

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa minyak *Acorus calamus* memiliki sifat antibakteri yang cukup kuat (Bhuvanawari, 2012). Selain itu, minyak *Acorus calamus* juga menunjukkan aktivitas biologis seperti insektisida dan antelmintika. Oleh karena itu penulis memandang perlu untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri *E. coli* minyak genoak (*Acorus calamus*) hasil destilasi uap batang genoak. Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan ekonomi masyarakat melalui pengungkapan nilai ekonomis tanaman genoak yang selama ini hanya dianggap sebagai tanaman pengganggu/gulma oleh masyarakat Timor.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Batang genoak, isolat bakteri *E. coli*, media agar, PDF (*Peptone Dilution Fluid*), akuades, PCA (*Plate Count Agar*), alkohol, petroleum eter, Na₂SO₄ anhidrat, Tween 80, parafin, TTC (1, 2, 3 Trifeniltetrazolium Klorida) 0,5.

Prosedur Penelitian

a. Isolasi dan identifikasi minyak atsiri

Rimpang atau batang genoak diambil dan dibersihkan kemudian diiris tipis-tipis ± 2 cm dan dikeringkan beberapa hari tanpa cahaya matahari langsung. Sampel yang sudah dikeringkan ditimbang dan diperoleh sebanyak 4 kg kemudian diblender. Sebanyak 1 kg rimpang batang genoak dimasukkan ke dalam labu destilasi dan dilarutkan dalam 5 L akuades. Hasil destilat berupa fraksi minyak dan

fraksi air. Fraksi minyak kemudian dipisahkan dari fraksi air berdasarkan densitas masing-masing fraksi. Fraksi minyak yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrat. Kandungan minyak dinyatakan sebagai rendemen dalam satuan gram minyak/gram sampel. Minyak yang diperoleh dianalisis komponen kimianya dengan menggunakan GC-MS dan diuji aktivitas antimikrobanya.

b. Pembuatan media dan pengujian aktivitas antibakteri

1. Pembuatan Media

a. Media PDF Steril

Ditimbang 0,1 g PDF kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Campuran tersebut kemudian dipanaskan dalam penangas air sampai membentuk larutan yang homogen. Sebanyak 9 mL larutan PDF tersebut di pipet ke dalam 10 tabung reaksi 25 mL. Setiap tabung reaksi diberi label 10⁻¹-10⁻¹⁰ dan disterilisasi dalam *autoclave*.

b. Media PCA Steril

Ditimbang 9 g PCA dalam Erlenmeyer 500 mL kemudian ditambahkan 400 mL akuades dan dipanaskan dalam penangas air sampai membentuk larutan. Campuran di sterilisasi dalam *autoclave*. Dibuat juga media PCA steril lainnya sebanyak 200 mL dengan cara yang sama.

2. Pengenceran bakteri

Isolat bakteri *E. coli* dipindahkan ke dalam larutan PDF menggunakan kawat ose. Campuran bakteri dihomogen-

kan. Ke dalam tabung reaksi 10^{-1} diisi dengan 0,1 mL larutan bakteri dan dihomogenkan.

Sebanyak 1,0 mL dari tabung 10^{-1} dipipet ke dalam tabung reaksi 10^{-2} kemudian dihomogenkan. Perlakuan yang sama dilakukan hingga pada tabung 10^{-10} .

Dari setiap tabung reaksi diatas (10^{-1} - 10^{-10}) dipipet masing-masing 1,0 mL untuk dimasukkan dalam cawan petri yang telah diberi label 10^{-1} - 10^{-10} . Perlakuan dilakukan dua kali. Setelah itu ke dalam cawan petri tersebut ditambahkan media PCA steril dan dihomogenkan hingga memadat. Media kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37 °C. Lalu dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

3. Pengenceran sampel minyak atsiri batang genoak

Minyak atsiri batang genoak ditambah dengan Tween 80 sebanyak 2 mL, lalu ditambahkan parafin sebanyak 10 mL kemudian diaduk rata, setelah tercampur ditambahkan 5 mL akuades. Setelah tercampur rata larutan berubah menjadi cair dan berwarna putih susu.

4. Uji aktivitas antibakteri

Disiapkan 6 tabung reaksi 25 mL yang telah diberi label 0, 2, 4, 6, 8 dan 10%. Ke dalam tiap-tiap tabung reaksi tersebut ditambahkan 9 mL media PDF steril. Selanjutnya ke dalam tabung reaksi 10% ditambahkan 1 mL sampel minyak atsiri yang telah diencerkan kemudian dihomogenkan. Dari tabung

reaksi 10% dipipet 2 mL ke dalam tabung reaksi 8% berturut-turut dilakukan hal yang sama untuk tabung reaksi 6, 4 dan 2% dengan penambahan 4, 6, 8 mL sampel minyak atsiri.

Setelah itu larutan diaduk (*Fortec Pixel*) sehingga tercampur merata. Setelah tercampur dengan rata disiapkan sebanyak 10 cawan petri. Setiap cawan diberi tanda mulai dari konsentrasi 10%-2%, masing-masing 2 cawan untuk melihat perbandingan. Setelah itu sebanyak 2 mL sampel dari tabung yang berkonsentrasi 10% dipipet sebanyak 2 mL ke dalam 2 cawan petri masing-masing 1,0 mL yang diberi label 10% dan ke dalam cawan petri tersebut ditambahkan 1 mL larutan bakteri 10^4 koloni/mL. Hal yang sama dilakukan juga untuk sampel 8-2%. Setelah itu ke dalam tiap-tiap cawan petri dituangkan PCA 200 mL yang sebelumnya telah ditambahkan TTC 0,5 sebanyak 2 mL media kemudian didiamkan hingga memadat dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam untuk kemudian dihitung bakteri yang tumbuh dengan menggunakan *colony counter*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil Destilasi Batang Genoak

Destilasi dilakukan dengan sistem *batch* dimana jumlah sampel yang didestilasi tiap *batch* adalah 1 kg sampel batang genoak. Destilasi dengan sistem *batch* dilakukan sebanyak 4 kali sehingga total sampel batang genoak yang didestilasi sebanyak 4 kg. Proses

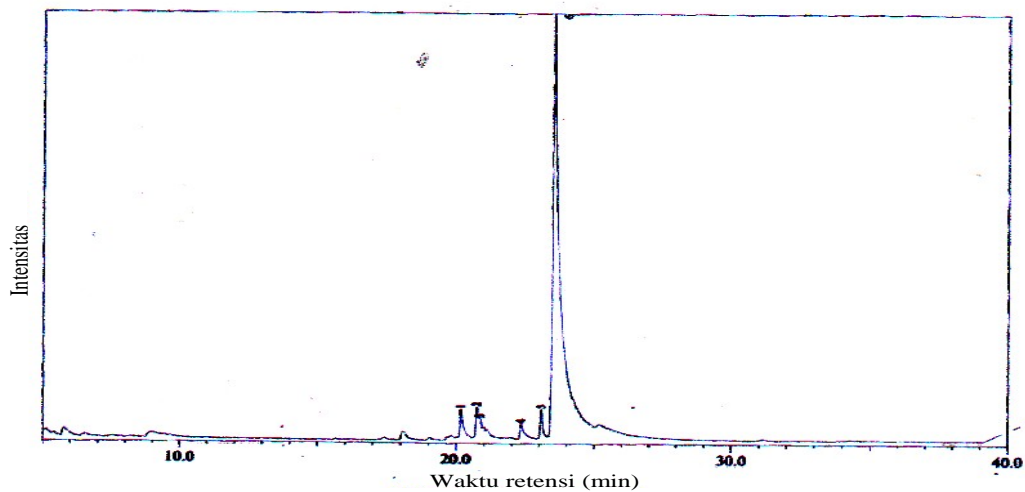
destilasi dihentikan dengan indikator kekeruhan. Kekeruhan destilat menunjukkan campuran minyak dan air sehingga jika destilat sudah tidak keruh, diasumsikan minyak batang genoak yang terkandung dalam sampel batang genoak telah habis terdestilasi. Adapun untuk setiap 1 kg sampel batang genoak, destilasi dilakukan selama lebih kurang 6 jam.

Minyak hasil destilasi diperoleh melalui pemisahan berdasarkan berat jenis minyak dan air. Minyak batang genoak terpisah dari air dan berada pada bagian atas. Minyak yang masih mengandung air dikeringkan melalui penambahan natrium sulfat anhidrous. Hasil destilasi sampel batang genoak diperoleh cairan berwarna kuning dengan bau yang khas dengan rendemen minyak

yang diperoleh sebesar 0,17%. Dari 4 kg sampel batang genoak kering diperoleh 6,68 gram minyak.

Identifikasi komponen kimia yang terkandung dalam minyak atsiri batang genoak dilakukan menggunakan instrumen gabungan kromatografi gas dan spektrometer massa (GC-MS). Hasil analisis minyak batang genoak menggunakan GC-MS diperoleh kromatogram sebagaimana disajikan pada Gambar 1.

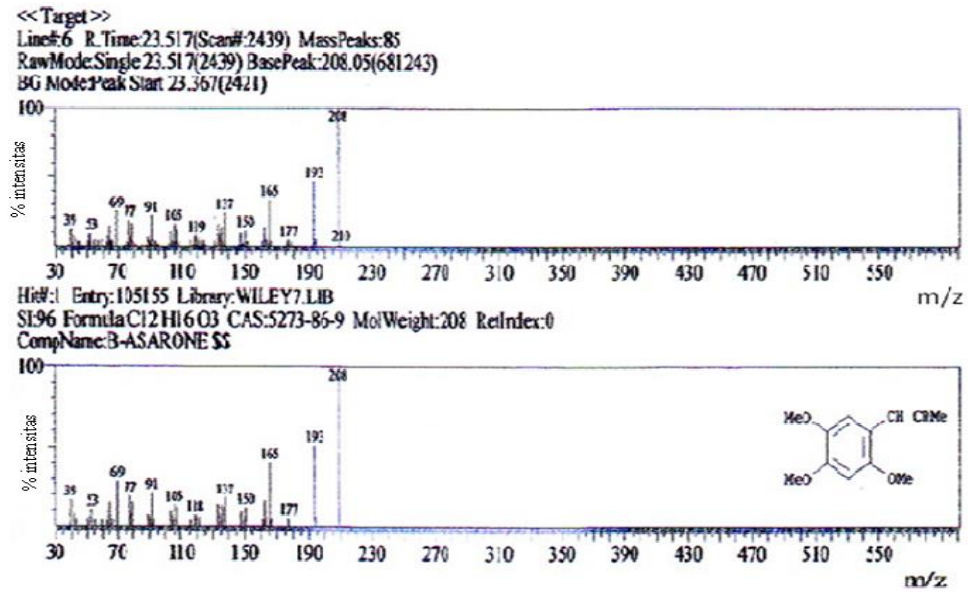
Dari Tabel 1 terlihat bahwa produk destilasi batang genoak relatif murni, yaitu dengan diperolehnya satu puncak yang sangat tinggi pada waktu retensi 23,514 menit (puncak 6) sedangkan puncak-puncak yang lainnya sangat rendah/kecil.



Gambar 1. Kromatogram GC minyak batang genoak (*Acorus calamus*)

Tabel 1. Waktu retensi dan prosentase senyawa dalam minyak batang genoak.

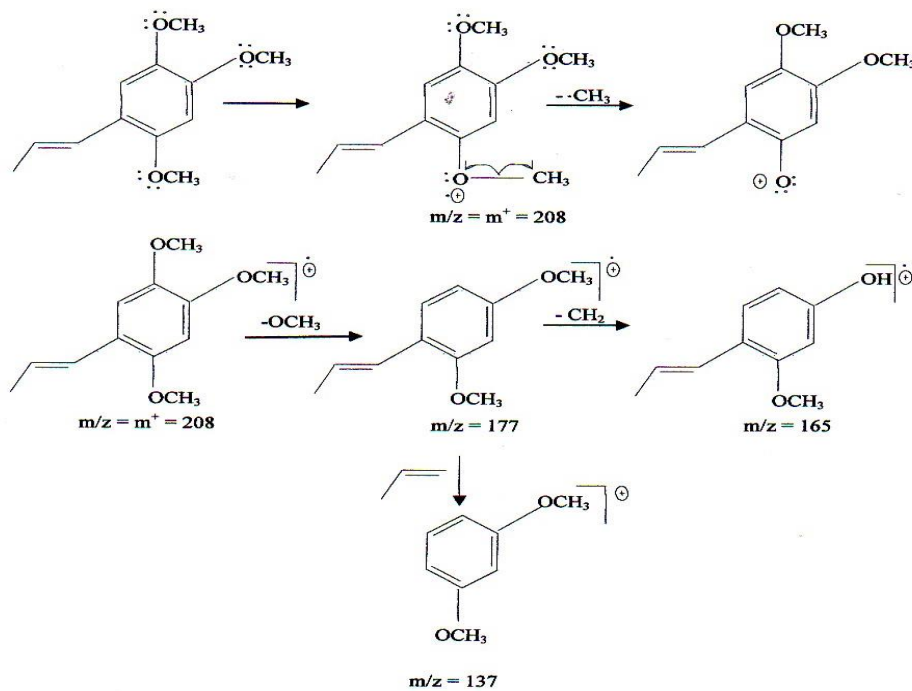
No. Puncak	Waktu Retensi (menit)	Prosentase (%)
1	20,171	3,32
2	20,747	2,62
3	20,875	0,86
4	22,342	1,13
5	23,073	2,35
6	23,514	89,81



Gambar 2. Spektra massa puncak 6 dan spektra massa referensi asaron

Analisis spektra massa (Gambar 2) menunjukkan bahwa puncak 6 dengan presentase 89,81% adalah senyawa **asaron**. Dari spektra massa di atas diketahui bahwa indeks kesesuaian (SI) antara spektra massa puncak 6 dengan spektra massa referensi asaron sangat tinggi yaitu 96%. Hal ini menjelaskan

bahwa dalam minyak batang goeak terdapat senyawa asaron dengan kadar yang tinggi yaitu 89,81%. Asaron merupakan senyawa yang paling banyak terkandung dalam batang goeak. Adapun fragmentasi spektra massa puncak 6 disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Fragmentasi spektrogram massa puncak 6

Dari pola fragmentasi sebagaimana gambar di atas, *base peak* adalah fragmen molekul dengan $m/z = 208$ yang juga bersesuaian dengan massa molekul relatif adalah senyawa asaron. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa asaron merupakan molekul yang stabil. Adapun massa $m/z = 210$ merupakan puncak isotop hidrogen. Hal ini diketahui dari perbandingan tinggi puncak $m/z = 208$ dengan $m/z = 201$ yang bersesuaian dengan perbandingan isotop 1_1H dengan 2_1D .

Puncak fragmen molekul dengan kelimpahan cukup tinggi ditunjukkan oleh puncak $m/z = 193$. Kestabilan molekul ini disebabkan stabilisasi muatan melalui resonansi yang banyak.

b. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli*

Pada penelitian ini, aktivitas antibakteri minyak atsiri batang genoak diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi 10^{-4} koloni/mL. Pemilihan konsentrasi ini didasarkan

pada metode uji antibakteri hitung cawan (*Plate Count*). Konsentrasi bakteri yang dapat digunakan untuk pengujian antibakteri adalah konsentrasi pengenceran tertinggi yang dapat memberikan jumlah bakteri terhitung. Oleh karena itu dalam penelitian ini konsentrasi bakteri *E. coli* yang digunakan diperoleh pada pengenceran 10^{-4} .

Dari hasil pengenceran bakteri mulai dari cawan 10^{-1} sampai 10^{-3} tidak dapat dihitung karena bakteri yang tak terhingga jumlahnya (*spreader*). Adapun pengenceran 10^{-4} diperoleh konsentrasi bakteri terhitung pada 297 koloni. Dari hasil yang diperoleh telah diketahui bahwa pengenceran yang akan digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri yaitu pada volume pengenceran 10^{-4} , sedangkan pada volume pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-10} tidak digunakan untuk menguji antibakteri karena bakteri yang tumbuh sangat sedikit.

Tabel 2. Pengenceran bakteri *E. coli* dengan menggunakan media PCA, suhu $37^{\circ}C$ dalam waktu 24 jam.

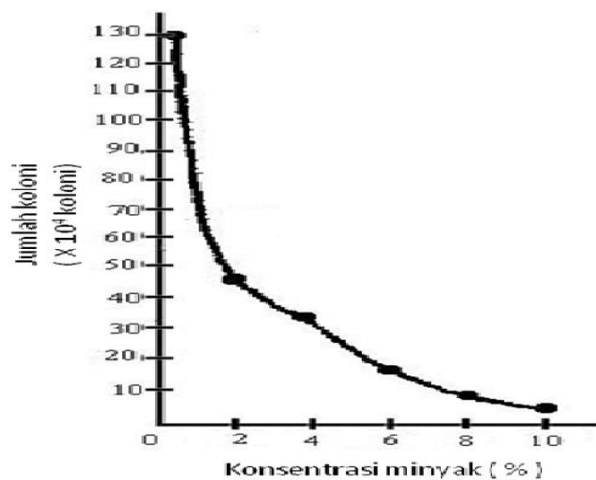
Volume pengenceran (g)	Cawan I	Cawan II	Total
10^{-1}	Tt	Tt	Tt
10^{-2}	Tt	Tt	Tt
10^{-3}	Tt	Tt	Tt
10^{-4}	155	142	297
10^{-5}	31	28	59
10^{-6}	11	12	23
10^{-7}	6	5	11
10^{-8}	1	2	3
10^{-9}	0	0	0
10^{-10}	0	0	0
Blanko media			0

Keterangan :

Tt : bakteri yang tumbuh tak terhitung jumlahnya
PCA : Plate Count Agar

Tabel 3. Konsentrasi minyak genoak dan rerata jumlah koloni yang tumbuh.

Konsentrasi minyak genoak (% v/v)	Jumlah koloni yang tumbuh		Rerata
	Cawan I	Cawan II	
0	128	132	130
2	46	44	45
4	32	34	33
6	16	18	17
8	10	9	9,5
10	5	6	5,5



Gambar 4. Grafik daya hambat minyak genoak terhadap *E. coli*

Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa minyak atsiri batang genoak (*Acorus calamus*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* besarnya daya hambat bakteri *E. coli* pada konsentrasi 10% v/v adalah sebesar 95,76%. Dengan demikian uji aktivitas antibakteri dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel semakin berkurang jumlah bakteri *E. coli* yang tumbuh.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa minyak atsiri batang genoak (*Acorus calamus*) mengandung asaron sebesar 89,81% dan memiliki aktivitas

antibakteri *E. coli* dengan daya hambat pertumbuhan bakteri sebesar 95,76% pada konsentrasi 10% (v/v).

DAFTAR PUSTAKA

- Bhuvaneswari, Rajagopal, 2012, Antibacterial Activity of *Acorus Calamus* and Some of its Derivatives Against Fish Pathogen *Aeromonas Hydrophila*, *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, Vol. 2 (2), pp. 191- 201
- Ferdiansyah, F., 2003, Penetapan Beberapa Parameter Kualitas Ekstrak dan Gambaran Kromatografi Gas-Spektrometri Massa

Minyak Atsiri Rimpang Dringo
(*Acorus calamus* L.) *Skripsi*
FMIPA, UNPAD, Bandung.

Waluyo, L., 2008, *Teknik Dan Metode
Dasar Dalam Mikrobiologi*,
UMM Press, Malang.

Iswanto, H., 2003, *Permintaan Calamus
Oil Tinggi Pasok Rendah*, Harian
Umum Bisnis, Jakarta