

AISOLASI DAN UJI DAYA ANTIMIKROBA EKSTRAK KULIT NANAS (*Ananas comosus L. Merr*)

MH Setiawan[✉] S Mursiti, E Kusumo

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Agustus 2016
Disetujui September 2016
Dipublikasikan Oktober 2016

Keywords:
peel pineapple;
antimicrobial; *S.aureus*;
E.coli; flavonoids

Abstrak

Kandungan senyawa flavonoid dalam limbah kulit nanas memiliki prospek positif sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak kulit nanas basah (KNB) dan ekstrak kulit nanas kering (KNK) dan mengetahui jenis senyawa flavonoid yang berperan sebagai antimikroba terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Flavonoid diisolasi menggunakan metode *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME) dan partisi. Aktivitas antimikroba diuji menggunakan metode difusi sumuran. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etil asetat KNB maupun ekstrak etil asetat KNK berpotensi sebagai antimikroba, namun ekstrak etil asetat KNB lebih efektif menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter daerah hambat (DDH) berturut-turut 13 mm dan 15 mm dibanding ekstrak etil asetat KNK dengan nilai DDH berturut-turut 12 dan 14,25 mm. Senyawa flavonoid dalam kulit nanas yang berperan sebagai antimikroba diduga merupakan golongan flavanon (KNB) dan dihidroflavonol (KNK).

Abstract

*Flavonoid compound in pineapple peel waste have positive prospects for antimicrobial. This study aims at understanding effectiveness of wet pineapple peel extract and dried pineapple peel extract antimicrobial and to know the type of flavonoid compound which act as antimicrobial against *S.aureus* and *E.coli*. Flavonoid was isolated using Domestic Microwave Maceration Extraction (DMME) and partitions. Antimicrobial activity was tested using pitting diffusion method. Based on the research result, wet pineapple peel extract and dried pineapple peel extract are potential to be antimicrobial. However wet pineapple peel extract is more effective to inhibit bacteria *S.aureus* and *E.coli* with Inhibitory Regional Diameter respectively 13 mm and 15 mm compared to dried pineapple peel extract with Inhibitory Regional Diameter respectively 12 and 14,25 mm. Flavonoid compound in pineapple peel that acts as an antimicrobial is thought to be flavanones (wet pineapple peel) and dihydroflavonol (dried pineapple peel).*

© 2016 Universitas Negeri Semarang

[✉] Alamat korespondensi:
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229
E-mail: hafizsetiawan17@gmail.com

PENDAHULUAN

Seringkali dijumpai di pasar-pasar, limbah kulit nanas kurang dimanfaatkan bahkan dibuang begitu saja di tempat sampah. Belum adanya pendayagunaan limbah kulit nanas ini menambah permasalahan lingkungan yang harus dicari solusinya. Sangat disayangkan bila limbah ini terus-menerus menumpuk dan tidak dimanfaatkan dengan baik, padahal kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, dan steroid (Kalaiselvi *et al.* 2012). Adanya kandungan senyawa flavonoid dalam limbah kulit nanas memiliki prospek positif sebagai antimikroba.

Berdasarkan penelitian Arum *et al.* (2012), flavonoid jenis auron, flavonol dan flavon dari ekstrak daun kersen mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Flavonoid jenis lain yaitu katekin dari buah belimbing manis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan flavonoid jenis flavanon yang diisolasi dari kulit akar awar-awar mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Vibrio cholera* dan *Eschericia coli* (Sukandana 2010).

Hasil uji fitokimia pendahuluan diketahui ekstrak kulit nanas positif mengandung flavonoid. Oleh sebab itu, diasumsikan bahwa ekstrak kulit nanas mengandung senyawa antimikroba sehingga dalam penelitian ini dilakukan isolasi senyawa flavonoid dan uji daya antimikroba terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

METODE

Penelitian diawali dengan preparasi kulit nanas kering (dibiarkan selama seminggu, sesekali dikenakan sinar matahari) dan kulit nanas basah (masih dalam keadaan segar). Keduanya dipreparasi sampai menjadi serbuk kulit nanas.

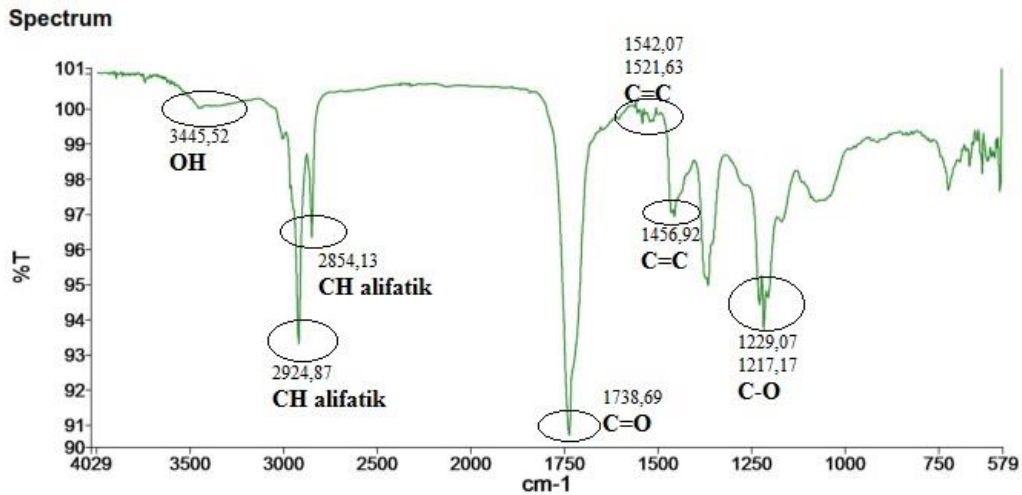
Senyawa flavonoid yang diisolasi dari kulit nanas (*Ananas comosus L.Merr*) meliputi beberapa tahapan antara lain preparasi sampel, proses

ekstraksi, partisi, dan identifikasi senyawa hasil ekstraksi. Beberapa tahapan diantaranya preparasi sampel, ekstraksi menggunakan metode *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME) dengan komposisi serbuk kulit nanas 20 g dan pelarut etanol 100 mL (Agnes *et al.* 2013), kemudian dievaporasi sampai kering.

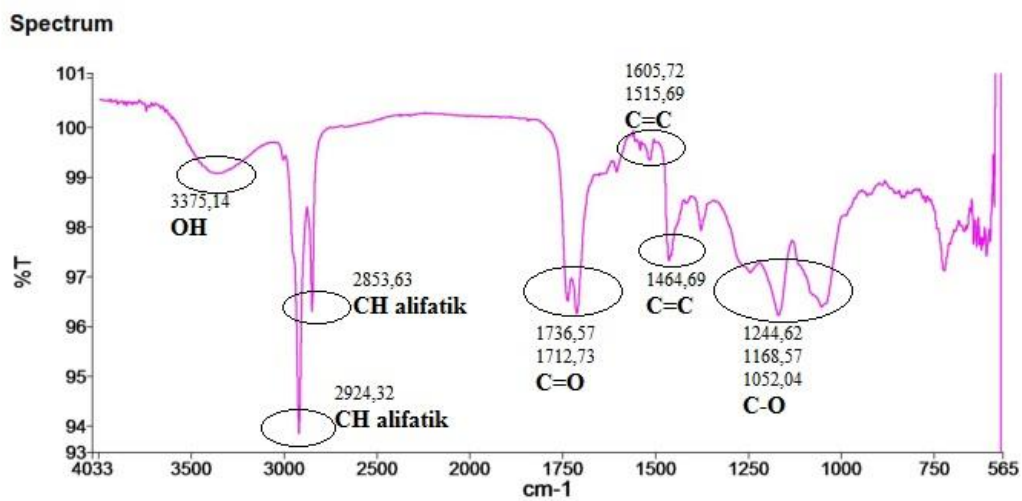
Hasil uji fitokimia yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit nanas basah (KNB) maupun ekstrak etanol kulit nanas (KNK) mengandung senyawa metabolit sekunder (flavonoid, alkaloid, tanin, steroid dan saponin) kemudian dipartisi menggunakan etil asetat-air (1:1) untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya sehingga diperoleh 2 lapisan. Lapisan etil asetat dan lapisan air dipisahkan dan diuji kandungan flavonoid (uji *wilstater*) Lapisan etil asetat KNB maupun lapisan etil asetat KNK positif mengandung flavonoid ditunjukkan dengan warna merah tua (KNB) dan jingga (KNK). Sedangkan lapisan air KNB maupun lapisan air KNK keduanya negatif mengandung flavonoid. Ekstrak etil asetat KNB dan ekstrak etil asetat KNK yang sudah dikeringkan selanjutnya dianalisis strukturnya menggunakan FTIR dan UV-Vis serta uji aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi sumuran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil spektrum inframerah ekstrak etil asetat KNB maupun ekstrak etil asetat KNK menunjukkan adanya serapan OH pada bilangan gelombang 3445,52 cm^{-1} dan 3375,14 cm^{-1} , CH alifatik pada bilangan gelombang 2924,87 cm^{-1} dan 2924,32 cm^{-1} , serapan C=O pada bilangan gelombang 1738,69 cm^{-1} dan 1712,73 cm^{-1} , dan C=C aromatik pada bilangan gelombang 1456,92 cm^{-1} dan 1464,69 cm^{-1} , serta C-O pada bilangan gelombang 1217,17 cm^{-1} dan 1168,57 cm^{-1} . Secara umum tidak ada perbedaan yang signifikan pada kedua spektrum. Spektrum FTIR ekstrak etil asetat KNB dan ekstrak etil asetat KNK disajikan secara lengkap pada Gambar 1 dan Gambar 2.



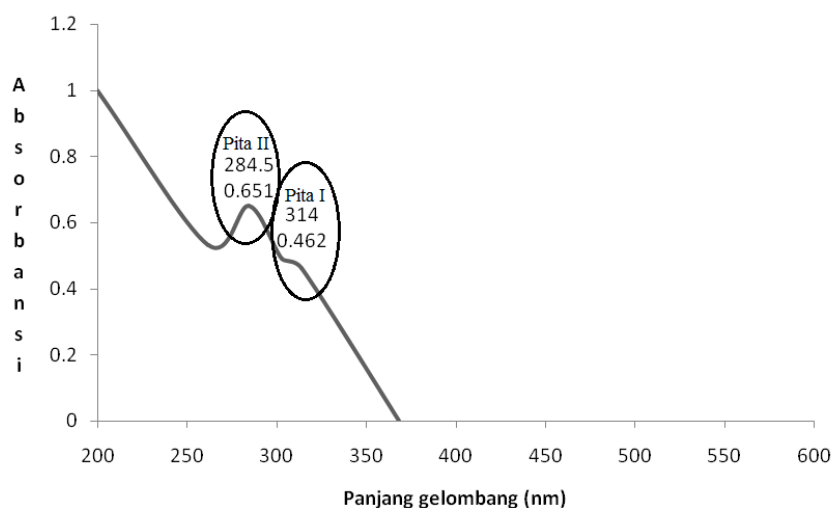
Gambar 1. Spektrum inframerah ekstrak etil asetat KNB



Gambar 2. Spektrum inframerah ekstrak etil asetat KNK

Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNB dan ekstrak etil asetat KNK dipaparkan pada Gambar 3 dan Gambar 4. Berdasarkan spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNB diperoleh dua puncak serapan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid yaitu puncak II pada 284,5 nm dan puncak I pada 314 nm. Menurut Sukadana (2010) serapan maksimum tersebut merupakan ciri khas senyawa flavonoid golongan flavanon atau dihidroflavonol yang memiliki serapan maksimum antara 275-295 nm pada pita II dan 300-330

(bahu) nm pada pita I. Dugaan senyawa flavanon atau dihidroflavonol pada ekstrak KNB juga didukung dengan data spektrum inframerah yaitu serapan gugus OH pada bilangan gelombang 3445,52 cm^{-1} , C=O pada 1738,69 cm^{-1} , C=C aromatik pada bilangan gelombang 1456,92 cm^{-1} , dan C-O pada bilangan gelombang 1217,17 cm^{-1} . Selain itu, berdasarkan identifikasi flavonoid secara kimia menunjukkan gugus OH dalam ekstrak KNB merupakan OH dari fenol dan gugus C=O dalam ekstrak merupakan C=O dari keton.



Gambar 3. Spektrum UV-Vis Ekstrak Etil Asetat KNB

Pola oksigenasi atau kemungkinan letak substituen gugus hidroksi (OH) pada kerangka flavanon atau dihidroflavonol dapat dilihat dari beberapa pereaksi geser antara lain NaOH 2 M, AlCl₃, dan AlCl₃-HCl. Hasil pergeseran panjang gelombang setelah penambahan tiap-tiap pereaksi geser tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid yang lebih mungkin merupakan golongan flavanon dengan letak substituen gugus hidroksil pada posisi atom C-7, tidak ada gugus orto dihidroksi pada C-4', C-5' dan tidak ada gugus hidroksi pada atom C-3 dan C-5. Tidak adanya gugus hidroksi pada atom C-3 menandakan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak bukan

merupakan golongan dihidroflavonol, melainkan merupakan senyawa flavonoid golongan flavanon. Dugaan ini diperkuat dengan uji warna yaitu reduksi dengan serbuk Mg dan HCl pekat yang menunjukkan perubahan warna merah yang sesuai dengan warna flavanon (Harborne 1987). Pergeseran hipokromik yang terjadi pada pita II setelah penambahan pereaksi geser AlCl₃, menunjukkan adanya gugus O-glikosida pada atom C-7. Spektrum UV-Vis sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dan data tabulasi sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dipaparkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNB sebelum dan sesudah penambahan pereaksi

Pereaksi	Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)		Geseran Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
Metanol	314	284,5		
Metanol + NaOH	315,4	284,5	+1,4	-
Metanol + NaOH (5menit)	315,4	285	+1,4	+0,5
Metanol + AlCl ₃	314	283,5	-	-1
Metanol + AlCl ₃ +HCl	314	284,5	-	-

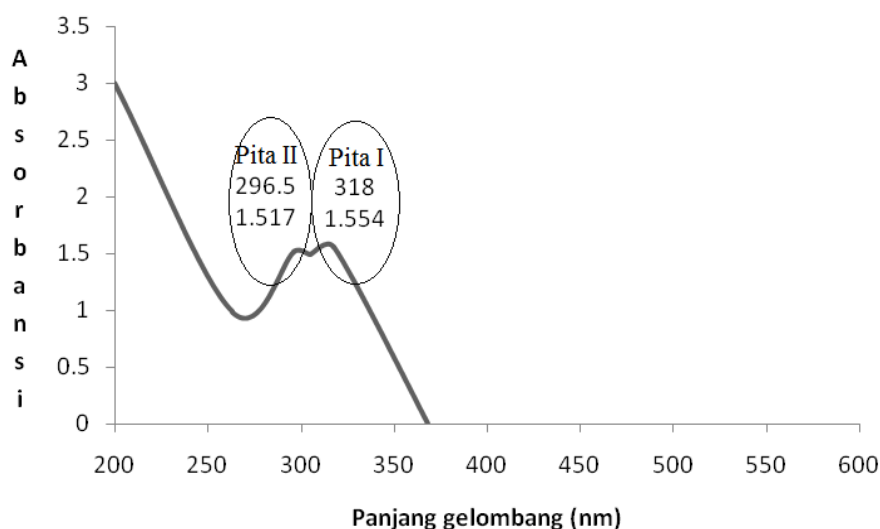
Spektrum UV-Vis ekstrak KNK juga diperoleh dua puncak serapan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid yaitu puncak II pada 296,5 nm dan puncak I pada 318 nm. Serapan tersebut juga termasuk senyawa flavonoid golongan flavanon atau dihidroflavonol. Dugaan senyawa flavanon atau dihidroflavonol pada ekstrak KNK juga didukung dengan data spektrum inframerah yaitu serapan gugus OH pada bilangan

gelombang 3375,14 cm⁻¹, C=O pada 1712,73 cm⁻¹, C=C aromatik pada bilangan gelombang 1464,69 cm⁻¹, dan C-O pada bilangan gelombang 1168,57 cm⁻¹. Selain itu, identifikasi flavonoid secara kimia menunjukkan gugus OH dalam ekstrak KNK merupakan OH dari fenol dan gugus C=O dalam ekstrak merupakan C=O dari keton.

Berdasarkan hasil pergeseran panjang gelombang setelah penambahan tiap-tiap pereaksi

geser tersebut, dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid yang lebih mungkin merupakan golongan dihidroflavonol yang memiliki gugus dihidroksil pada posisi orto pada cincin A, gugus orto dihidroksil pada C-4', C-5' dan gugus hidroksil pada atom C-3. Adanya gugus hidroksil pada atom C-3 menandakan bahwa senyawa flavonoid dalam

ekstrak bukan merupakan golongan flavanon, melainkan golongan dihidroflavonol. Spektrum UV-Vis sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dan data tabulasi sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dipaparkan pada Tabel 2.



Gambar 4. Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNK

Tabel 2. Data Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNK sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser

Pereaksi	Panjang Gelombang λmaks (nm)		Geseran Panjang Gelombang λmaks (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
Metanol	318	296,5		
Metanol +NaOH	318	296	-	-0,5
Metanol +NaOH(5 menit)	318	296	-	-0,5
Metanol + AlCl ₃	319	296,5	+1	-
Metanol + AlCl ₃ +HCl	320	296,5	+2	-

Hasil pengujian antimikroba dengan metode difusi sumuran menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat KNB dan ekstrak etil asetat KNK menunjukkan penghambatan terhadap bakteri *S.*

aureus untuk gram positif dan *E. coli* untuk gram negatif. Akan tetapi ekstrak KNB lebih efektif menghambat mikroba dibandingkan ekstrak KNK.

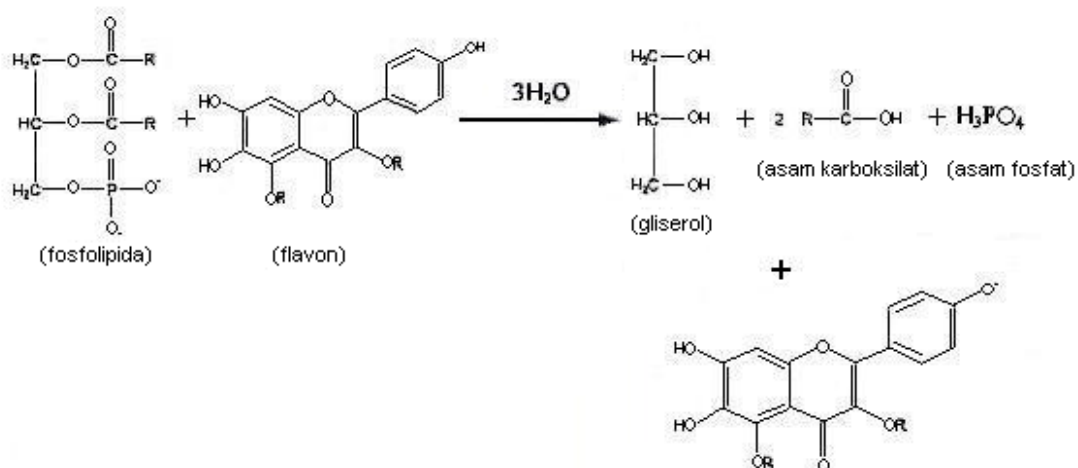
Tabel 3. Diameter daerah hambat (mm) ekstrak etil asetat KNK dan ekstrak etil asetat KNB terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*

Sampel	Diameter (mm)					
	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	1%	2%	4%	1%	2%	4%
KNK						
Rata-rata	0,5	0,65	1	0,25	1,25	2
KNB						
Rata-rata	0	0,75	2	0,25	1,75	2,75

Keterangan : - Data tersebut telah dikurangi diameter sumuran (10 mm) dan DDH kontrol negatif
 - Data merupakan hasil rata-rata dari dua kali ulangan

Berdasarkan Tabel 3, ekstrak KNB maupun ekstrak KNK keduanya tergolong hambatan yang lemah terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Menurut Nimah *et al.* (2012), apabila diameter zona hambat yang terbentuk pada uji difusi sumuran berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah. Efek ekstrak sebagai antibakteri tergolong bakteriostatik yang kemungkinan terjadi karena adanya reaksi suatu senyawa kimia. Prajitno (2007) menjelaskan bahwa mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel bakteri. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri.

Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel sehingga dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada perusakan membran sitoplasma, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Prajitno (2007) menjelaskan reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon ditunjukkan dalam Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon

SIMPULAN

Senyawa flavonoid dalam kulit nenas basah (KNB) dan kulit nenas kering (KNK) yang berperan sebagai antimikroba diduga merupakan golongan flavanon (KNB) yang mempunyai gugus O-glikosida pada atom C-7 (cincin A) dan tidak terdapat gugus orto dihidroksil pada cincin A, B dan C, dan dihidroflavonol (KNK) yang mempunyai gugus orto dihidroksil pada atom C-6 dan C-7 (cincin A), gugus orto dihidroksil pada atom C-4' dan C-5' (cincin B), dan gugus hidroksil pada atom C-3 (cincin C). Ekstrak etil asetat KNB lebih efektif menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli* pada konsentrasi 4% dengan memberikan zona bening terbesar berturut-turut 13 mm dan 15 mm

dibandingkan ekstrak etil asetat KNK berturut-turut 12 dan 14,25 mm.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut untuk menentukan struktur ekstrak menggunakan metode $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, GC-MS dan memanfaatkan kulit nenas sebagai antimikroba selain pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

DAFTAR PUSTAKA

Agnes LOW, Ayucitra A, & Indraswati N. 2013. Ekstraksi Kulit Petai Sebagai Sumber Antioksidan Alami Dengan Metode Domestic Microwave Maceration. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia* 11(5).

- Arum YP, Supartono & Sudarmin. 2012. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura*). *Jurnal MIPA* 35(2):
- Harborne JB. 1987. *Metode FitokimiaE disi ke-2 diterjemahkan oleh Padmawinata*. Bandung: Penerbit ITB.
- Kalaiselvi M, Gomathi D, & Uma C. 2012. Occurrence of Bioactive Compounds in *Ananus comosus (L)*: A Standardization by HPTLC. *Asia Pac J of Trop Biomed* S1341-S1346.
- Nimah S, Ma'ruf WF, & Trianto A. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Perikanan* 1(2).
- Prajitno A. 2007. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumpun Laut (*Eucheuma Cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Protein* 2(15)
- Sukadana IM. 2010. Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-Awar (*Ficus Septica Burm F*). *Jurnal Kimia* 4(1): 63-70.