

KOMPOSISI KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI *Piper gibilimum* C. DC.: PIPERACEAE

Praptiwi*, Yuliasri Jamal, Ahmad Fathoni, dan Ary P. Keim

Bidang Botani, Puslit Biologi LIPI, Jl Raya Bogor Km 46, Cibinong 16911, Jawa Barat

E-mail: praptiwi@yahoo.com

ABSTRACT

Distillation of *Piper gibilimum* leaves by water distillation yielded 0.85% light yellow essential oil. Result of GC-MS analyses showed that *P. gibilimum* essential oil contained 72 chemical compounds with major components 3-carene (40.64%), β -pinene (8.47%), cineol (6.19%), α -copaene (5.47%) and α -guaiene (9.30%). Antibacterial test with disc paper method indicated that the essential oil at 50% concentration inhibited the growth of *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus viridans*, *Escherisia coli* and *Shigella flexneri*.

Key words: antibacteria, chemical components, essential oil, *Piper gibilimum*

PENGANTAR

Tumbuhan obat merupakan produsen senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologi termasuk antimikroba. Pada saat ini telah banyak terjadi resistensi terhadap antibiotika yang tersedia disamping itu kejadian penyakit infeksi terus meningkat. Oleh sebab itu, perlu dilakukan pencarian sumber senyawa-senyawa kimia yang dapat mengatasi resistensi antibiotika pada mikroba patogen.

Salah satu marga tumbuhan yang telah dikenal mempunyai sifat sebagai antimikrobal adalah dari Piperaceae yang pada umumnya menghasilkan minyak atsiri. Minyak atsiri dari beberapa jenis *Piper* seperti *P. aduncum*, *P. arboreum*, dan *P. tuberculatum* telah diketahui mempunyai sifat sebagai antijamur, sedangkan minyak atsiri dari *P. multiplinervium* mempunyai sifat sebagai antibakteri (Silva *et al.*, 2009).

Piper gibilimum sebagai salah satu jenis tumbuhan Piperaceae juga telah dimanfaatkan sebagai bahan obat antara lain sebagai bahan antiseptik pada penderita abses dan juga untuk mengatasi demam (Rali *et al.*, 2007). *P. gibilimum* dinyatakan sebagai tumbuhan asli dari Papua New Guinea (Gardner, 2003) merupakan perdu dengan tinggi mencapai 4 m dan umumnya tumbuh pada dataran tinggi dengan ketinggian tempat berkisar antara 1000-3000 m dpl. Hasil penelitian Rali *et al.* (2007) menunjukkan bahwa komponen utama minyak atsiri *P. gibilimum* adalah gibbilimbols. Hasil penelitian Orijala *et al.* (1988) pada fraksinasi ekstrak eter *P. gibilimum* teridentifikasi 4 senyawa baru yaitu gibbilimbols A-D yang toksik terhadap larva udang dengan nilai LC₅₀ 5 ug/mL, juga toksik terhadap sel KB (sel kanker mulut) dan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. epidermidis* dan *B. subtilis*.

Pada tulisan ini akan dilaporkan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada minyak atsiri *P. gibilimum* yang berasal dari Wamena, Papua beserta potensinya sebagai antibakteri.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tumbuhan

Daun *Piper gibilimum* diperoleh dari daerah Wamena, Papua. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense –LIPI, Cibinong.

Distilasi Minyak Atsiri

Daun *P. gibilimum* yang telah kering angin (235 g) dipotong-potong selanjutnya didistilasi secara distilasi air selama 4 jam. Minyak atsiri yang diperoleh dibebaskan dari kandungan air dengan menambahkan Na₂SO₄ dan disimpan di dalam kulkas sebelum dilakukan analisis lebih lanjut.

Analisis Komponen Minyak Atsiri *P. gibilimum* dengan GC-MS

Minyak atsiri yang diperoleh dan telah bebas dari air diambil 0,1 μ l selanjutnya diencerkan dengan heksana untuk selanjutnya dianalisis komponen kimianya dengan GC-MS (Varian Saturn 2000). Kondisi analisis: gas pembawa: Helium (He); kolom: VF-17 (varian 30 m $\times$ 0,25 mm); suhu injector: 230° C; volume sampel yang diinjeksikan: 2 μ L; laju alir kolom: 1,3 mL/mnt, tekanan 60 Psi; suhu interphase: 270° C; suhu kolom: 50° C selama 3 menit, naik menjadi 150° C dengan kecepatan kenaikan suhu 4° C/menit, dan dinaikkan menjadi 250° C dengan kecepatan kenaikan suhu 3° C/menit. Pada suhu 250° C dipertahankan 3,67 menit,

sehingga total waktu analisis 65 menit. Spektrum massa masing-masing puncak hasil analisis GCMS selanjutnya diidentifikasi dengan spektrum massa autentik keluaran *National Institute Standard of Technology (NIST) Library* yang memuat lebih kurang 74000 spektrum massa senyawa-senyawa yang telah diketahui.

Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri

P. gibbilimum

Minyak atsiri *P. gibbilimum* diencerkan pada konsentrasi 50% dengan pelarut 0,5% tween 80,2% etanol absolut dan air. Minyak atsiri yang telah diencerkan digunakan pada uji antibakteri. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi kertas cakram (Ratan, 2000). Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, dan *Shigella flexneri*) dan bakteri Gram positif (*Streptococcus mutans*, *S. viridans*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *S. epidermidis*). Masing-masing konsentrasi mempunyai 2 ulangan.

Masing-masing inokulum bakteri diinkubasi pada *Mueller Hinton Broth* pada suhu 37° C selama 18 jam. Inokulum bakteri selanjutnya diencerkan dengan 0,85% larutan NaCl steril sehingga mencapai kekeruhan setara dengan standar MFarland no. 0,5 (10^{6-8} CFU/ml). 100 ul inokulum bakteri disebarkan perlahan-lahan pada cawan petri yang berisi media *Mueller Hinton Agar* padat. Kertas cakram steril yang telah ditetesi dengan 15 µL ekstrak yang akan diuji diletakkan pada media *Muller Hinton Agar* yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Cawan petri selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37° C selama 24 jam, dan zona penghambatan pertumbuhan bakteri merupakan zona bening disekitar kertas cakram diukur diameternya, sedangkan sebagai kontrol negatif adalah 10 ul campuran 0,5% tween 80,2% etanol absolut dan air.

HASIL

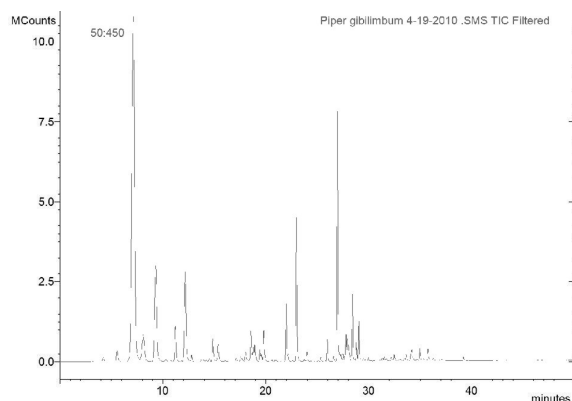
Hasil distilasi daun *Piper gibbilimum* kering menghasilkan 0,85% minyak atsiri yang berwarna kuning terang. Minyak atsiri ini memiliki aroma yang khas.

Tabel 1. Komposisi senyawa *Piper gibbilimum*

No	Retention Time	Senyawa	RM	Persentase(%)
1	4.192	SPIRO[2.4]HEPTA-4,6-DIENE	C7H8	0,24
2	5.551	, 3,3,6-trimethyl-1,5-Heptadien-4-one	C10H16O	0,71
3	7.139	3-Carene	C10H16	40,64
4	8.074	Camphene	C10H16	2,43
5	9.283	2-.beta.-PINENE	C10H16	8,47
6	10.306	.DELTA.3-Carene	C10H16	0,14
7	10.810	.alpha.-Humulene	C15H24	0,05
8	11.218	dl-Limonene	C10H16	1,85
9	11.818	Santolina epoxide	C10H16O	0,02
10	12.170	1,8-Cineole	C10H18O	6,19
11	12.784	.gamma.-Terpinene	C10H16	0,25
12	13.703	trans Sabinene hydrate	C10H18O	0,11
13	13.936	Cyclohexanol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-	C10H18O	0,10
14	14.208	1-(2-Benzoyloxyethyl)cyclohexene	C15H20O	0,06
15	14.490	6-PROPENYL-BICYCLO[3.1.0]HEXAN-2-ONE	C9H12O	0,12
16	14.638	Unknown		0,00
17	14.830	L-LINALOOL	C10H18O	1,13
18	15.382	.alpha.-CAMPHOLENE ALDEHYDE Type 1	C10H16O	0,87
19	16.038	1-TERPINEOL	C10H18O	0,03
20	17.139	.alpha.-CAMPHOLENE ALDEHYDE Type 2	C10H16O	0,17
21	17.543	A-PHELLANDRENE EPOXIDE	C10H16O	0,20
22	17.682	Verbenol	C10H16O	0,16
23	18.019	3-Cyclopentene-1-ethanol, 2,2,4-trimethyl-	C10H18O	0,55
24	18.530	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1S)- (CAS)	C10H18O	1,34
25	18.754	Type 1	C10H16O	0,62
26	18.910	.gamma.-CAMPHOLENIC ACID METHYL ESTER	C11H18O2	0,90

No	Retention Time	Senyawa	RM	Persentase(%)
27	19.411	3-Cyclohexene-1-methanol,.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, (S)- (CAS)	C10H18O	0,44
28	19.547	Pinocarvone	C10H14O	0,29
29	19.788	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1S)- (CAS) Type 2	C10H16O	1,37
30	20.611	.alpha.-Campholenic acid methyl ester (CAS)	C11H18O2	0,07
31	20.868	carveol	C10H16O	0,06
32	21.014	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-carboxaldehyde, 6,6-dimethyl- (CAS)	C10H14O	0,06
33	21.975	Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)- Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo)- (CAS)	C10H16	1,94
34	22.148		C12H20O2	0,31
35	22.968	.alpha.-Copaene	C15H24	5,47
36	23.702	bicyclogermacrene	C15H24	0,09
37	23.979	Sabinyol acetate	C12H18O2	0,34
38	25.128	Caryophyllene	C15H24	0,03
39	25.367	.alpha.-Guaiene Type 1	C15H24	0,16
40	25.752	.alpha.-Ylangene	C15H24	0,03
41	25.962	.gamma.-Gurjunene	C15H24	0,84
42	26.594	Ylangene	C15H24	0,21
43	26.954	.alpha.-Guaiene Type 2	C15H24	9,30
44	27.265	AROMADENDRENE	C15H24	0,12
45	27.493	.beta.-Chamigrene	C15H24	0,16
46	27.783	.beta.-Selinene	C15H24	1,34
47	27.933	Valencene	C15H24	1,51
48	28.402	5-BETA-H,7-BETA,10-ALPHA-SELINA-4(19),11-DIENE	C15H24	2,27
49	28.772	GERMACRENE-D	C15H24	0,73
50	29.014	.beta.-cadinene Type 1	C15H24	1,73
51	29.485	.alpha.-Murolene	C15H24	0,09
52	29.615	ISOAROMADENDRENEPOXID Type 1	C15H24O	0,03
53	29.960	1S,CIS-CALAMENENE	C15H22	0,18
54	31.217	CALACORENE	C13H16	0,06
55	31.358	LONGIPINOCARVEOL, TRANS-2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)- (CAS)	C15H24O	0,09
56	31.508		C14H20O2	0,13
57	31.740	ISOAROMADENDRENEPOXID Type 2	C15H24O	0,11
58	32.196	VERIDIFLOROL Type 1	C15H26O	0,15
59	32.457	(-)-Caryophyllene oxide	C15H24O	0,29
60	32.944	Cubenol Type 1	C15H26O	0,03
61	33.054	Calarene epoxide	C15H24O	0,06
62	33.422	Cubenol Type 1	C15H26O	0,06
63	33.615	Caryophyllene oxide	C15H24O	0,29
64	34.154	.beta.-cadinene Type 2	C15H24	0,61
65	34.296	.tau.-Cadinol	C15H26O	0,14
66	34.659	Torreyol	C15H26O	0,09
67	34.930	.beta.-Eudesmol	C15H26O	0,55
68	35.312	Agarospirrol	C15H26O	0,06
69	35.750	Juniper camphor	C15H26O	0,45
70	36.247	.beta.-Guaiene	C15H24	0,08
71	37.080	VERIDIFLOROL Type 2	C15H26O	0,04
72	39.173	Unknown		0,18

Hasil analisis komponen kimia minyak atsiri *P. gibbilimum* yang dilakukan dengan GC-MS menunjukkan adanya 72 komponen kimia (Tabel 1) dan beberapa komponen diantaranya merupakan komponen utama yaitu 3-karena (40,64%), β -pinena (8,47%), sineol (6,19%), α -kopaena (5,47%) dan α -guaiena (9,30%).



Gambar 1. KromatoGram GC minyak atsiri *P. gibbilimum*

Minyak atsiri pada konsentrasi 50% (pelarut 0,5% tween 80, 2% etanol absolut dan air) diuji aktivitas antibakterinya terhadap 9 isolat bakteri yang terdiri dari 5 isolat bakteri Gram positif (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. Subtilis*, *S. mutans*, *S. viridans*) dan empat isolat bakteri Gram negatif yaitu *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, dan *S. flexneri*. Hasil uji antibakteri 50% minyak atsiri *P. gibbilimum* dengan metode kertas cakram menunjukkan adanya kemampuan untuk menghambat pertumbuhan beberapa isolate bakteri yang diuji dengan nilai Diameter Daerah Hambat (DDH) yang bervariasi.

Tabel 2. Diameter Daerah Hambat (DDH) 50% minyak atsiri *P. gibbilimum* terhadap beberapa isolat bakteri

No	Isolat Bakteri	DDH (mm)	
		50% minyak atsiri	Kontrol
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	-
2	<i>S. epidermidis</i>	-	-
3	<i>Bacillus subtilis</i>	10	-
4	<i>Streptococcus mutans</i>	10	-
5	<i>Streptococcus viridans</i>	9	-
6	<i>Escherichia coli</i>	7	-
7	<i>Proteus mirabilis</i>	-	-
8	<i>Pvulgaris</i>	-	-
9	<i>Shigella flexneri</i>	8	-

PEMBAHASAN

Komponen kimia yang terdapat pada minyak atsiri *P.gibbilimum* telah diidentifikasi 72 komponen dengan 5 komponen utama. Komponen utama tersebut telah dilaporkan masing-masing mempunyai aktivitas biologi. Senyawa 3-karena yang mempunyai persentase paling tinggi pada minyak atsiri *P. gibbilimum*. Hasil penelitian Agneta *et al.* (1991) menunjukkan bahwa senyawa 3-karena dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan membran mukosa, pemaparan pada jangka panjang bahkan dapat mengakibatkan alergi pada kulit dan juga kerusakan kronis fungsi paru-paru. Sedangkan sineol, dan pinene juga mempunyai aktivitas biologi. Beta pinena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pneumonia*, dan *S. pyogenes* (Leita *et al.*, 2007). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Bougatsos *et al.* (2004) bahwa beta-pinena menghambat pertumbuhan *S.aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *K. Pneumoniae*, dan *E. coli* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) berturut-turut 12, 16, >20, >20 dan 9,75 mg/ml. Berdasarkan hal tersebut maka kemampuan minyak atsiri *P.gibbilimum* penghambatan pertumbuhan terhadap beberapa isolat Gram negatif dan Gram positif yang diuji berkaitan dengan kandungan beberapa komponen kimia yang secara sinergis menghambat pertumbuhan bakteri.

Daya hambat pertumbuhan bakteri yang diukur sebagai diameter daerah hambat menunjukkan bahwa DDH pada bakteri Gram positif cenderung lebih besar daripada DDH pada Gram negatif. Jadi yang lebih sensitif terhadap minyak atsiri *P. gibbilimum* adalah isolat bakteri Gram positif. Hal ini mungkin disebabkan karena susunan dinding sel pada bakteri Gram negatif lebih kompleks dari pada Gram positif sehingga lebih sulit untuk menembus dinding sel Gram negatif.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah daun kering *P.gibbilimum* mengandung 0.85% minyak atsiri dengan 72 komponen kimia yang terdiri dari 5 komponen utama yaitu utama 3-karena (40,64%), β -pinena (8,47%), sineol (6,19%), α -kopaena (5,47%) dan α -guaiena (9,30%). Pada konsentrasi 50% minyak atsiri tersebut mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan beberapa isolat bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui komponen yang bersifat sebagai antibakteri perlu dilakukan, atau gabungan beberapa komponen tersebut bersifat sinergis atau antagonis sebagai antibakteri.

KEPUSTAKAAN

- Agneta F, Agneta L, Mats H, Ewa WH, and Zhiping W, 1991. Human Exposure to 3-carene by Inhalation: Toxicokinetics, Effects on Pulmonary Function and Occurrence of Irritative and CNS Symptoms. *Toxicology and Applied Pharmacology* 110 (2): 198–205. Diakses: 25 Oktober 2010.
- Bougatsos C, Ngassapa O, Runyoro DKB, and Chinou IB, 2004. Chemical Composition and *In-vitro* Antimicrobial Activity of The Essential Oils of Two *Helichrysum* species from Tanzania. *Z. Naturforsch* 59c: 368–372.
- Gardner RO, 2003. Piper (Piperaceae) in New Guinea: The Non-Climbing Species. *Blumea* 48: 47–68.
- Leite AM, de Oliveira Lima E, de Souza EL, de Fatima Formiga Melo Diniz M, Trajano VN, de Medeiros IA, 2007. Inhibitory Effect of β -pinene, α -pinene and eugenol on The Growth of Potential Infectious Endocarditis causing Gram-positive Bacteria. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* v. 43 n. 1 São Paulo ene./mar. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322007000100015&lng=es&nrm=iso
- Orjala J, Mian P, Rali T, Sticher O, 1988. Gibbilimbols A_D, cytotoxic and antibacterial alkenilphenols from *Piper gibbilimum*. *J. Nat Prod* 61(7): 939–941.
- Rali T, Wossa SW, Leach DN, Waterman PG, 2007. Volatile chemical constituents of *Piper gibbilimum* C. DC (Piperaceae) from Papua New Guinea. *Molecules* 12: 389–394.
- Ratan, 2000.
- Silva DR, Endo EH, Filho BPD, Nakamura CV, Svidzinski TIE, de Souza A, Young MCM, Ueda-Nakamura T, and Cortez DAG, 2009. Chemical composition and antimicrobial properties of *Piper ovatum* Vahl. *Molecules* 14: 1171–1182.

Reviewer: Tim Reviewer