



CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355-7877

e-ISSN: 2355-7931

Journal homepage: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Journal E-mail: current.biochemistry@gmail.com

CB Current
Biochemistry

Analysis of Metabolite Compound Profiles of Miana Leaves Endophytic Bacteria (*Coleus scutellariodes*) using GC-MS

(Analisis Profil Senyawa Metabolit Bakteri Endofit Daun Miana (*Coleus scutellariodes*) menggunakan GC-MS)

Dwi Endah Kusumawati^{1*}, Ukhradiya Magharaniq Safira Purwanto², Maria Bintang², Fachriyan Hasmi Pasaribu³

¹Department of Pharmacy, Sultan Agung Islamic University, Semarang, 50112, Indonesia

²Department of Biochemistry, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

³Departement of Animal Infectious Disease and Veterinary Public Health, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

Received: 7 October 2021 ; Accepted: 2 December 2021

Corresponding author : Dwi Endah Kusumawati ; Program Studi Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung Semarang; e-mail: dwiendahkusumawati@unissula.ac.id

ABSTRACT

Bioactive compounds from endophytic bacteria as novel source of antibacterial agents need to be explored, as an alternative to substitute synthetic antibiotics. Based on previous studies, *Brevibacillus* sp. DM6 was a potential isolate that showed antibacterial activity. This study aimed to identify antibacterial compounds produced by DM6 isolate using GC-MS method. The GC-MS results showed that the chloroform extract of DM6 contained : 1-Octadecene.alpha.-Octadecene, Hexanedioic acid, dioctyl ester dioctyl adipate, Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-3,5-Di-tert-butylphenol, and 1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo[4.3.0]nonane. Adipic acid/hexanedioic acid and phenols are also known to contained in the leaves of *Coleus scutellariodes*. This indicated that endophytic bacteria are able to synthesize antibacterial compounds which are identical to those produced by the plant hosts.

Keywords: Antibacterial, *Coleus scutellariodes*, DM6, Endopytic bacteria, GC-MS

ABSTRAK

Penelusuran senyawa bioaktif dari bakteri endofit yang berperan sebagai sumber antibakteri baru perlu untuk dilakukan, sebagai alternatif pengganti antibiotik sintetis. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, *Brevibacillus* sp DM6 merupakan isolat potensial yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh DM6 menggunakan metode GC-MS. Hasil GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak kloroform isolat bakteri endofit tersebut mengandung: 1-Octadecene.alpha.-octadecene, hexanedioic acid, dioctyl ester dioctyl adipate, fenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-3,5-di-tert-butylphenol, dan 1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo[4.3.0]nonane. Senyawa asam

adipat/hexanedioic acid dan fenol diketahui juga terkandung di daun *Coleus scutellarioides*. Hal ini mengindikasikan senyawa antibakteri yang dihasilkan bakteri endofit identik dengan tanaman inangnya.

Kata kunci: Antibakteri, Bakteri Endofit, *Coleus scutellarioides*, DM6, GC-MS

1. PENDAHULUAN

Penelusuran sumber alternatif antibiotik baru dari bahan alami perlu untuk dilakukan mengingat adanya peningkatan resistensi dari bakteri patogen terhadap antibiotik. Salah satu bakteri yang menunjukkan gejala resistensi antibiotik golongan betalaktam yaitu *Escherichia coli* (Firizki 2014). Bakteri ini diketahui menyebabkan penyakit Infeksi Saluran Kemih (ISK), yang apabila tidak ditangani sejak awal dapat menimbulkan komplikasi seperti gagal ginjal, sepsis, bahkan kematian.

Indonesia adalah negara dengan sumber daya alam hayati yang beragam. *Colleus scutellarioides* atau yang dikenal dengan tanaman miana, merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki daya antibakteri terhadap *E. coli*. Daun miana diketahui mengandung berbagai senyawa antibakteri seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin (Anita et al. 2019). Ekstrak daun miana diketahui memiliki tingkat toksisitas yang rendah sehingga aman untuk dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan alami (Ridwan 2020).

Produksi senyawa bioaktif yang berasal dari tanaman dapat lebih mudah dan cepat dilakukan dengan memanfaatkan bakteri endofit, tentunya dipilih bakteri endofit dengan kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif yang identik dengan tanaman inang. Berdasarkan penelitian sebelumnya, isolat bakteri endofit dari daun miana yang diberi kode DM6 menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *E. coli* (Kusumawati et al. 2014). Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan mengidentifikasi jenis

senyawa metabolit yang dihasilkan oleh isolat DM6 menggunakan analisis GC-MS.

2. METODOLOGI

Fermentasi dan ekstraksi metabolit isolat DM6

Isolat DM6 diambil satu ose kemudian dimasukkan ke dalam 50 mL media *Nutrient Broth* (NB), lalu diinkubasi selama 48 jam (suhu 28-30 °C, 150 rpm). Setelah itu, hasil fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 5500 rpm (60 menit) untuk pemisahan antara media dengan sel bakteri endofit. Supernatan diekstraksi menggunakan kloroform (1:1 v/v) kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak yang dihasilkan kemudian digunakan untuk identifikasi senyawa metabolit dengan metode GC-MS.

Identifikasi senyawa metabolit ekstrak kloroform isolat DM6 dengan teknik GC-MS.

Tahap awal sebelum ekstrak diinjeksikan ke alat GC-MS adalah dengan melarutkan ekstrak kloroform menggunakan aseton. Proses GC-MS dilakukan dengan kondisi operasional sebagai berikut :

Gas : Helium
Detektor : MS (*Mass Spectrometer*)
Kolom : kapiler tipe Phase Rtx-5MS dengan panjang 60 m dan diameter 0.25 mm
Suhu kolom : 50 °C
Inlet Press : 0.85 kPa
Column flow : 0.85 mL/menit

3. HASIL

Tahap awal sebelum dilakukannya isolasi senyawa metabolit yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen adalah dengan memperbanyak

biomassa sel isolat DM6. Senyawa metabolit isolat DM6 yang memiliki daya antibakteri diduga merupakan senyawa ekstraseluler, sehingga yang diambil dari hasil sentrifugasi untuk diekstraksi adalah supernatannya. Pelarut non-polar yang dipilih untuk digunakan yaitu kloroform.

Berdasarkan data hasil analisis GC-MS ekstrak kloroform DM6, beberapa senyawa metabolit yang terdeteksi diantaranya: 1-Octadecene.alpha.-Octadecene, senyawa ini muncul pada waktu retensi 19.096 (12.62%)

dan 20.443 (9.63%). Senyawa Hexanedioic acid, dioctyl ester dioctyl adipate dengan konsentrasi 10.83%. Senyawa 3-Octadecene, (E) dengan konsentrasi 9.67%, Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-3,5-Di-tert-butylphenol dengan konsentrasi 9.31%. Senyawa 1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo[4.3.0]nonane dengan konsentrasi 6.43%, dan senyawa 1-TRICOSENE yang muncul pada waktu retensi 21.783 dengan konsentrasi 5.97% dan 23.339 dengan konsentrasi 3.95% (Tabel 1).

Tabel 1 Hasil identifikasi GC-MS isolat DM6

Peak Report TIC			
R.Time	Area	Conc%	Name
7.840	14596501	0.90	Cyclopropane, 1,1-dibromo-2-chloro-2-fluoro- (CAS) 1,1-DIBROMO-2-CHLO
12.444	14172207	0.88	Cyclopropane, 1,1-dibromo-2-chloro-2-fluoro- (CAS) 1,1-DIBROMO-2-CHLO
15.608	45286251	2.80	1,3-Cyclopentanedione (CAS) 1,3-Cyclopentadione
15.894	39337960	2.43	3-Hexadecene, (Z)- (CAS)
16.492	27484342	1.70	Cyclohexanone, 2-(1-methylheptyl)- (CAS)
16.573	16093697	0.99	4,5,6-Trimethyl-2-pyrimidone
17.188	150623003	9.31	Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)- (CAS) 3,5-Di-tert-butylphenol
17.397	31202810	1.93	1-Octanol, 2-butyl- (CAS) 2-Butyl-1-octanol
17.593	156444978	9.67	3-Octadecene, (E)- (CAS)
17.700	12581769	0.78	2-Undecene, 3-methyl-, (Z)- (CAS)
18.759	18890235	1.17	4H-Pyran-4-one, 2,2'-isopropylidenebis[3-methoxy-6-methyl- (CAS) 2,2-(5-M
18.891	27659171	1.71	Cyclohexanamine, N-cyclohexyl- (CAS) Dicyclohexylamine
19.096	204191456	12.62	1-Octadecene (CAS) .alpha.-Octadecene
19.262	14539411	0.90	3-PYRROLIDIN-2-YL-PROPIONIC ACID
19.763	103961802	6.43	1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo[4.3.0]nonane
20.443	155829458	9.63	1-Octadecene (CAS) .alpha.-Octadecene
20.668	14163610	0.88	1,4-diaza-2,5-dioxo-3-isobutyl bicyclo[4.3.0]nonane
20.828	23957319	1.48	3,9-DIAZATRICYCLO[7.3.0.0(3,7)]DODECAN-2,8-DIONE
21.609	12952700	0.80	1-Tridecanol (CAS) n-Tridecanol
21.783	96655645	5.97	1-TRICOSENE
22.013	28799608	1.78	Tetradecanamide
23.339	63880005	3.95	1-TRICOSENE
23.515	175212888	10.83	Hexanedioic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl adipate
23.592	17410623	1.08	10-Undecenal (CAS) Undecylenic aldehyde
23.658	19905948	1.23	Hexadecanamide (CAS) Amide 16
24.298	12775335	0.79	Tricosane (CAS) n-Tricosane
25.392	52928417	3.27	Cyclooctacosane
26.741	13724529	0.85	Tetratetracontane (CAS) n-Tetratetracontane
28.337	31934362	1.97	1-Hentetracontanol (CAS) N-HENTETRACONTANOL-1
28.774	20666051	1.28	9-Octadecenamide, (Z)- (CAS) OLEOAMIDE
	1617862091	100.00	

4. PEMBAHASAN

Produksi senyawa bioaktif yang dilakukan dengan fermentasi diketahui mempunyai beberapa keuntungan, yaitu : bakteri endofit dapat ditumbuhkan sesuai dengan ciri dan kondisi pertumbuhan yang telah diketahui berdasarkan penelitian pendahuluan, isolat dapat dikultur cairan sesuai kebutuhan, perbanyakkan biomassa sel dapat dilakukan dengan waktu yang lebih singkat, serta dapat menghasilkan senyawa bioaktif secara konsisten dan kontinu (Anindyawati & Priadi 2017).

Penelitian sebelumnya oleh Kusumawati et al. (2014) menunjukkan isolat DM6 memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*. Beberapa senyawa yang terkandung di ekstrak kloroform isolat DM6 berhasil dianalisis menggunakan teknik GC-MS. Senyawa tersebut juga diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa tersebut diantaranya: 1-Octadecene, senyawa ini diketahui dihasilkan oleh kapang endofit belimbing manis (*Averrhoa carambola*) yang memiliki daya antibakteri terhadap *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *E. coli* (Anindyawati & Priadi 2017), dan senyawa tersebut dihasilkan juga oleh bakteri endofit tanaman sirih (*Piper betle*) (Bintang et al. 2015) yang menunjukkan daya antibakteri terhadap *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis* dan *E. coli* (Purwanto 2014).

Hexanedioic acid merupakan golongan senyawa yang dihasilkan oleh *Hermentia illucens* dan diketahui memiliki daya hambat terhadap *Klebsiella pneumonia*, *Shigella dysenteriae*, dan *S. aureus* (Choi & Jiang 2014). Hexanedioic acid juga merupakan senyawa antibakteri yang dilaporkan terkandung di ekstrak etil asetat tanaman obat bandotan (Sugara 2011) dan ditemukan pula pada ekstrak etil asetat bakteri

endofit tanaman nyawai (*Ficus variegata* Blume) yang memiliki daya hambat terhadap, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Leonita et al. 2015).

Senyawa 3-Octadecene dan 1-Tricosane ditemukan juga dalam ekstrak etanol bunga tanaman obat *Calotropis gigantea* (Dhivya & Manimegalai 2013). Basu et al. (2013) melaporkan ekstrak etanol umbi akar *Amorphophallus campanulatus* juga mengandung senyawa metabolit 3-Octadecene. Selain itu, 3-Octadecene juga merupakan senyawa antibakteri yang berhasil diidentifikasi dari alga merah *Eucheuma spinosum* berdasarkan hasil analisis GC-MS (Rarassari et al. 2016).

Senyawa lain yang teridentifikasi adalah fenol yang diketahui memiliki daya antimikroba. Hasil penelitian Winarto (2007) melaporkan bahwa senyawa fenol terkandung di daun miana. Turunan fenol seperti 3-benzyl 1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo[4.3.0]nonane dan asam heksadekanoat dari ekstrak etil asetat *Burkholderia cepacia* juga diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophyla*, *Edwardsiella tarda* dan *Vibrio ordalli* yang merupakan jenis bakteri patogen pada ikan (Gohar et al. 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2008) menunjukkan bahwa ekstrak aseton dari tanaman miana (*C. scutellarioides*) mengandung senyawa asam adipat hexanedioic acid, bis (2-ethylhexyl) yang diduga berperan terhadap aktivitas antibakteri. Senyawa asam adipat/hexanedioic acid juga merupakan senyawa metabolit isolat DM6 yang terdeteksi. Berdasarkan hasil analisis GC-MS dan studi literatur yang dilakukan, terindikasi bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari daun miana, dalam hal ini isolat DM6 ternyata mampu menghasilkan senyawa metabolit yang identik dengan tanaman inangnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anindyawati T, Priadi D. 2017. Isolasi, Uji Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Kapang Endofit dari Tanaman Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.). *Warta Industri Hasil Pertanian* 34(1):1-7.
- Anita, Basarang M, Rahmawati. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*. 10(1):72-78.
- Basu S, Choudhury UR, Das M, Datta G. 2013. Identification of bioactive components in ethanolic and aqueous extracts of *Amorphophallus campanulatus* tuber by GC-MS analysis. *International Journal of Phytomedicine* 5:243-251.
- Bintang M, Purwanto UMS, Kusumawati DE, Yang JJ. 2015. Study of Endophytic Bacteria as Novel Source of Antioxidant Agent Based on GC-MS Analysis. *International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences (IJCEBS)* 3(5):368-369.
- Choi WH, Jiang M. 2014. Evaluation of antibacterial activity of hexanedioic acid isolated from *Hermentia illucens* larvae. *Journal of Applied Biomedicine* 12(3):179-189.
- Dhivya R, Manimegalai K. 2013. Preliminary phytochemical screening and GCMS profiling of ethanolic flower extract of *Calotropis gigantea* Linn. (Apocyanaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2(3):28-32.
- Firizki, F. 2014. Pola Kepekaan *Escherichia coli* dan *Klebsiella* sp. terhadap Antibiotik Sefalosporin Periode Tahun 2008-2012 di Bandar Lampung. *Medical Journal of Lampung University* 3(6):64-73.
- Gohar YM, El-Naggar MMA, Soliman MK, Barakat KM. 2010. Characterization of marine *Burkholderia cepacia* antibacterial agents. *International Journal of Natural Products* 3:86-94.
- Kusumawati DE, Bintang M, Pasaribu FH. 2014. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Miana (*Coleus scutellariodes* L.Benth) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry* 1(1): 49-50.
- Leonita L, Bintang M, Pasaribu FH. 2015. Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from *Ficus variegata* Blume as Antibacterial Compounds Producer. *Current Biochemistry* 2(3):116-128.
- Purwanto UMS. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri dari Bakteri Endofit Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.). [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahmawati F. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellariodes* L. Benth.) [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rarassari MA, Darius, Kartikaningsih H. 2016. Daya hambat ekstrak *Eucheuma spinosum* dengan konsentrasi berbeda terhadap *Bacillus cereus*. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan* 7(1): 5-11.
- Ridwan Y, Satrija F, Handharyani E. Toksisitas Akut Ekstrak Daun Miana (*Coleus blumei* Benth) pada Mencit (*Mus musculus*). *IPB*. 2020:8(1):55-61.
- Sugara TH. 2011. Karakterisasi senyawa aktif antibakteri dari fraksi etil asetat daun tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L). [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Winarto WP. 2007. Tanaman Obat Indonesia untuk Pengobatan Herba. Ed ke-1. Jakarta: Karyasari Herba Media.

