

Aktivitas Antibakteri dan Analisis Fitokimia Ekstrak Metanol dari Daun Paku Sarang Burung (*Asplenium nidus*)

(Antibacterial Activities and Phytochemical Analysis in Methanol Extract of Bird Nest Fern (*Asplenium nidus*))

Risky Hadi Wibowo*, Redo Setiawan, Welly Darwis, Sipriyadi, Rochmah Supriati, Alfredi Anis Fadhila Ginting Sinisuka

(Diterima Desember 2021/Disetujui April 2022)

ABSTRAK

Penyakit infeksi yang disebabkan mikroba semakin meningkat; mikroba dapat dihambat pertumbuhannya dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik terus menerus dan tidak tepat menyebabkan mikroba menjadi resisten. Pengurangan resistensi dapat diupayakan dengan menemukan sumber antibiotik baru, salah satunya paku sarang burung (*Asplenium nidus*). Penelitian ini bertujuan mengukur potensi dan konsentrasi ekstrak daun paku sarang burung (*Asplenium nidus*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, dan *Bacillus subtilis* ATCC 19659. Sampel daun dimaserasi dengan metanol sebagai pelarutnya. Pengujian fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin, fenolik, tanin dan kuinon. Konsentrasi hambat minimum diuji pada 12 perlakuan dengan 3 ulangan, dan efektivitas antibakteri diuji pada 7 perlakuan dengan 5 ulangan menggunakan metode difusi cakram. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun paku sarang burung mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan fenolik. Ekstrak tersebut berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri uji dengan konsentrasi paling efektif pada *P. aeruginosa*, yaitu 45% dengan daya hambat 14,16 mm, pada *E. coli*, yaitu 55% dengan daya hambat 13,68 mm, pada *B. subtilis* 65% dengan daya hambat 14,80 mm, dan pada *S. aureus*, yaitu 75% dengan daya hambat 11,96 mm.

Kata kunci: antibiotik, *Asplenium nidus*, penyakit infeksi

ABSTRACT

Infectious diseases caused by microbes are increasing; the growth of microbes can be inhibited by using antibiotics. Continuous and inappropriate use of antibiotics causes microbes to become resistant. The resistance can be reduced by finding new sources of antibiotics, one of which is from the bird nest fern (*Asplenium nidus*). This study aimed to determine the potency and concentration of *A. Nidus* extract in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, and *Bacillus subtilis* ATCC 19659. The extract was prepared using the maceration method with methanol as the solvent. Phytochemical tests include alkaloids, flavonoids, steroids, terpenoids, saponins, phenolics, tannins, and quinones. The minimum inhibitory concentration test was carried out on 12 treatments with three replications; the antimicrobial effectiveness test was carried out on seven treatments with five replications using the disc diffusion method. Phytochemical test results showed *A. Nidus* contains flavonoids, tannins, saponins, and phenolics. *A. nidus* extract has the potential to inhibit the growth of the testing pathogenic bacteria, with the most effective concentration on *P. aeruginosa* of 45% with an inhibitory zone was about 14,16 mm, on *E. Coli* started of 55% with an inhibitory zone was about 13,68 mm, on *B. Subtilis* of 65% with an inhibitory zone was about 14,80 mm and *S. aureus* was 75% with an inhibitory zone of 11,96 mm.

Keywords: antibiotics, *Asplenium nidus*, Infectious disease

PENDAHULUAN

Mikroba merupakan mikroorganisme yang dijumpai di mana-mana seperti di air, udara, tanah, maupun makhluk hidup lainnya, tak terkecuali manusia. Ada mikroba yang menguntungkan dan ada juga yang merugikan; mikroba salah satu dampak merugikan adalah menimbulkan penyakit infeksi. Beberapa

mikroba penyebab penyakit antara lain *Staphylococcus aureus* penyebab jerawat, *Escherichia coli* penyebab diare, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus subtilis* penyebab meningitis (Jawetz *et al.* 2015). Pengendalian mikroba penyebab infeksi telah diupayakan, salah satunya adalah menggunakan antibiotik.

Pertumbuhan mikroba dapat dihambat dengan antibiotik tetapi penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan terus menerus menyebabkan mikroba menjadi resisten. Resistensi dapat dikurangi dengan menemukan sumber antibiotik baru yang aman dan jumlahnya banyak tersedia di alam. Sumber antibiotik

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Jl. W.R.Supratman, Kandang Limun, Bengkulu 38122

* Penulis Korespondensi: Email: rhwibowo@unib.ac.id

dapat berasal dari tumbuhan, salah satunya ialah paku sarang burung (*Asplenium nidus*) (Nigam *et al.* 2013).

Paku burung merupakan salah satu tumbuhan dari famili Aspleniaceae yang dapat digunakan sebagai obat (Makhmud 2018). Tahir *et al.* (2017) melaporkan bahwa spesies ini mengandung alkaloid, flavonoid, dan terpenoid, yang dapat digunakan sebagai antimikrob. Tumbuhan ini banyak ditemukan di daerah tropis seperti di Desa Barumais, tetapi keberadaannya dianggap sebagai pengganggu karena sering tumbuh menempel pada tanaman pertanian seperti pohon aren, kopi, dan jenis tanaman pertanian lainnya. Pemanfaatannya di Desa Barumanis, Bengkulu, belum maksimal dan tidak jarang hanya dibuang saja. Penelitian tentang uji ekstrak paku burung sebagai antibakteri masih sedikit. Maka dari itu, potensi antibakteri dan analisis fitokimia ekstrak metanol dari daunnya perlu diteliti agar ke depannya tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan.

METODE PENELITIAN

Sampling dan Penyiapan Ekstrak

Sebanyak 500 g daun paku burung segar diambil di Desa Barumanis, Kecamatan Bermani Ulu, Kabupaten Rejang Lebong, kemudian dibersihkan, dicuci dengan air mengalir, dan ditiriskan. Selanjutnya sampel dipotong kecil-kecil dan dikeringanginkan hingga bobotnya konstan. Simplisia dimaserasi dengan metanol dengan nisbah 1:10 selama 5×24 jam. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring, dan filtratnya dievaporasi dengan 80 rpm pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat (Enderini 2014).

Uji Fitokimia

Kandungan fitokimia diuji secara kualitatif, meliputi uji metabolit sekunder yang diduga dapat menghambat pertumbuhan mikrob.

Uji Alkaloid: sebanyak 2,5 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL akuades, selanjutnya dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang didapatkan digunakan untuk percobaan berikut: a) Sebanyak 3 tetes filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner. Senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna cokelat sampai kehitaman (Harbone 1987), dan b) Sebanyak 3 tetes filtrat ditambahkan 2–3 tetes pereaksi Dragendroff. Senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga (Ningsih *et al.* 2016).

Uji Triterpenoid dan Steroid: Sebanyak 5 mL larutan ekstrak diuapkan dan didapatkan residu, kemudian residu dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ke dalam campuran ditetesi 2–3 tetes asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Kandungan triterpenoid ditandai dengan timbulnya cincin berwarna kecokelatan atau violet pada

perbatasan dua pelarut dan membentuk warna ungu atau jingga. Kandungan steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan (Sarker *et al.* 2006; Kashani *et al.* 2012).

Uji Tanin dan Fenolik: Sebanyak 5 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes FeCl₃ 10%. Keberadaan tanin ditandai dengan perubahan warna menjadi biru tua, biru kehitaman, atau hijau kehitaman. Kandungan senyawa fenolik ditandai dengan timbulnya warna hijau, merah, ungu, biru, dan hitam (Harbone 1987).

Uji Flavonoid: Sebanyak 5 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan 5 mL air panas, 1 mL HCl pekat dan 0,1 g pita logam Mg. Kandungan senyawa flavonoid ditandai dengan warna merah, kuning, atau jingga (Harbone 1987).

Uji Saponin: Sebanyak 5 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah dengan 10 mL air dan dikocok dengan kuat selama 10 detik. Terbentuknya lapisan busa 1–10 cm dan tidak hilang setelah ditambahkan HCl 2 N menunjukkan keberadaan saponin (Harbone 1987).

Uji Kuinon: Sebanyak 5 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah dengan 3 tetes NaOH 1 N. Terbentuknya warna kuning mengindikasikan keberadaan senyawa golongan kuinon (Djamil & Tria 2009).

Uji Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi hambat minimum (KHM, *minimum inhibitory concentration*, MIC) ditetapkan dengan metode difusi cakram (Cappuccino & Natalie 2013). Sebanyak 1 mL suspensi bakteri uji dimasukkan ke dalam 100 mL media *tryptic soy agar* (TSA) yang masih cair dengan menggunakan mikropipet, dan dihomogenkan dengan pengaduk magnetik kemudian dituang ke dalam cawan petri hingga memadat. Selanjutnya kertas cakram dimasukkan ke dalam cawan tersebut dan ditetesi dengan ekstrak daun sebanyak 5 µm dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dan dimetil sulfoksida (DMSO) 40% sebagai kontrol negatif. Setiap perlakuan diulang 3 kali, kemudian diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 37 °C. Zona bening yang timbul di sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong. Keberadaan zona bening mengindikasikan bahwa ekstrak dapat menghambat pertumbuhan mikrob uji. Hasil pengukuran zona bening digunakan untuk menentukan konsentrasi ekstrak pada uji efektivitas antibakteri dengan cara mengambil konsentrasi terkecil tetapi mempunyai kategori daya hambat yang kuat.

Uji Efektivitas Antibakteri

Efektivitas ekstrak diuji menggunakan metode difusi cakram pada 7 perlakuan dan 5 ulangan. Untuk bakteri *P. aeruginosa* ATCC 15442 digunakan konsentrasi ekstrak 15%, 22,5%, 30%, 37,5%, dan 45%. Untuk bakteri *E. coli* ATCC 8739 digunakan konsentrasi ekstrak 25%, 32,5%, 40%, 47,5%, dan 55%. Untuk bakteri *B. subtilis* ATCC 19659

digunakan konsentrasi ekstrak 35%, 42,5%, 50%, 57,5%, dan 65%, sementara untuk *S. aureus* ATCC 6538 digunakan konsentrasi 45%, 52,5%, 60%, 67,5%, dan 75%.

Zona hambat diukur pada sisi vertikal dan horizontal, kemudian dirata-ratakan. Hasil pengukuran tersebut dikurangi dengan diameter kertas cakram yang digunakan. Selanjutnya kategori zona hambat diklasifikasi menurut Davis dan Stout (1971) dalam Ouchari *et al.* (2019) (Tabel 1).

Analisis Data

Data dianalisis dengan sidik ragam ANOVA menggunakan aplikasi SPSS. Jika $F_{hitung} > F_{tabel}$, maka hasilnya dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Dahlan 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Faktor Abiotik

Sampel daun paku sarang burung dikumpulkan di lokasi dengan faktor abiotik seperti yang tertera pada Tabel 2. Sampel diambil di Desa Barumanis pada ketinggian 962 mdpl dengan suhu udara 18,3–34,2°C, kelembapan udara 81–87%, kelembapan tanah 3%, intensitas cahaya 4150 Cd, dan pH tanah

Tabel 1 Klasifikasi aktivitas antimikrob berdasarkan diameter zona hambat

Zona Hambat (mm)	Keterangan
> 20	Sangat kuat
10–20	Kuat
5–10	Sedang
<5	Lemah

Tabel 2 Keadaan faktor abiotik tempat pengambilan sampel daun paku sarang burung (*Asplenium nidus*)

Faktor abiotik	Hasil pengukuran
Titik koordinat	S 03°24.911' / E 102°26.609'
Suhu udara	Minimum: 18,3°C Maksimum: 34,2°C
Kelembapan udara	Minimum: 81% Maksimum: 87%
Ketinggian	962 mdpl
Intensitas cahaya	4150 Cd
pH tanah	6,9
Kelembapan tanah	3%

Tabel 3 Hasil uji fitokimia ekstrak daun paku sarang burung (*Asplenium nidus*)

Jenis Uji	Pereaksi	Hasil	Indikator
Flavonoid	HCl, Mg	+	Terjadi perubahan warna jingga
	Dragendorff	-	Tidak ada endapan
Alkaloid	Wagner	-	Tidak ada endapan
	FeCl ₃	+	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
Fenolik	FeCl ₃	+	Terjadi perubahan warna menjadi hitam
Saponin	Akuades, HCl	+	Timbul lapisan busa di bagian atas tabung
Kuinon	NaOH	-	Tidak ada perubahan warna menjadi kuning
	H ₂ SO ₄	-	Tidak terjadi perubahan warna hijau kebiruan
Steroid	Asam asetat anhidrat	-	Tidak terjadi perubahan warna hijau kebiruan
	H ₂ SO ₄	-	Tidak ada timbul cincin kecokelatan atau violet
Triterpenoid	Asam asetat anhidrat	-	Tidak ada timbul cincin kecokelatan atau violet

Keterangan: + = Ada dan - = Tidak ada.

6,9. Sampel tumbuh epifit pada batang pohon aren (*Arenga pinnata*).

Kandungan Fitokimia

Hasil uji fitokimia dirangkum pada Tabel 3, meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, fenolik, saponin, kuinon, steroid, dan triterpenoid. Pada uji ini digunakan teknik visualisasi perubahan warna dan endapan untuk menunjukkan ada tidaknya metabolit sekunder yang diuji (Gambar 1). Hasil uji positif adalah untuk 4 golongan senyawa, yaitu flavonoid, tanin, fenol, dan saponin, sedangkan 4 uji yang hasilnya negatif ialah alkaloid, triterpenoid, steroid, dan kuinon. Ada kesamaan dan perbedaan antara temuan ini dan laporan beberapa peneliti sebelumnya. Tahir *et al.* (2017) melaporkan hasil uji yang positif untuk golongan alkaloid dan terpenoid tetapi hasil negatif untuk saponin dan flavonoid. Hasil yang bertentangan ini berkaitan dengan pelarut yang digunakan pada maserasi. Prinsip kerja dari maserasi ialah memisahkan campuran senyawa berdasarkan kepolarannya. Pada penelitian ini, digunakan metanol yang bersifat polar sehingga senyawa yang bersifat polar seperti flavonoid dan saponin dapat ditarik, tetapi tidak dapat menarik senyawa yang nonpolar seperti alkaloid dan terpenoid. Tahir *et al.* (2017) menggunakan pelarut nonpolar pada proses maserasi, yaitu heksana, klorofom, dan etil asetat sehingga dapat menarik senyawa nonpolar seperti alkaloid dan terpenoid, tetapi tidak dapat menarik senyawa polar seperti saponin dan flavonoid.

Selain faktor penggunaan pelarut, kandungan metabolit sekunder pada tumbuhan juga dipengaruhi oleh faktor biotik ataupun abiotik pada tempat sampel tumbuh. Menurut Sholekah (2017), metabolit sekunder dibentuk oleh tumbuhan dengan berbagai

jalur metabolisme dan dipengaruhi oleh faktor seperti ketinggian tempat, pH, cahaya, dan suhu, yang memengaruhi kandungan senyawa fitokimianya. Penelitian Adawiyah (2020) menemukan bahwa perbedaan lokasi dan ketinggian memengaruhi kandungan flavonoid pada paku sarang burung yang diambil di Gunitir (ketinggian 700–850 mdpl), yaitu 5,837% dan 1,512%, sedangkan sampel dari Garahan (ketinggian 550–551 mdpl) sebesar 3,357% dan 1,206%. Kandungan fenolik di Gunitir 17,968% dan 6,474%, sedangkan di Garahan adalah 15,074% dan 6,335%.

Konsentrasi Hambat Minimum

Pada uji awal penentuan KHM digunakan konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Uji ini digunakan untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan pada uji efektivitas antibakteri berdasarkan nilai konsentrasi dan kategori zona hambat, yaitu pada konsentrasi ekstrak yang rendah tetapi masuk dalam kategori zona hambat yang kuat. Hasil uji KHM ditampilkan pada Tabel 4. Berdasarkan uji awal KHM, ekstrak daun paku sarang burung mampu menghambat bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, dan *S. aureus*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin lebar zona hambat yang dihasilkan.

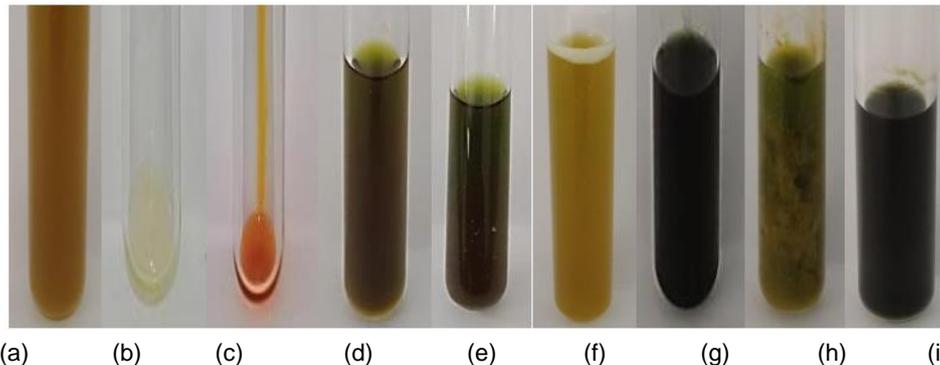
Efektivitas Antibakteri

Berdasarkan uji awal MIC, untuk *P. aeruginosa* ATCC 15442 ditetapkan konsentrasi 15%; 22,50%;

30%; 37,50%; 45; untuk *E. coli* ATCC 8739 ditetapkan konsentrasi 35,00%; 42,50%; 50,00%; 57,50%; dan 65,00%; untuk *B. subtilis* ATCC 19659 adalah konsentrasi 35,00%; 42,50%; 50,00%; 57,50%; dan 65,00%; sementara untuk *S. aureus* ATCC 6538 adalah 45,00%; 52,50%; 60,00%; 67,50%, dan 75,00%. Hasil uji efektivitas mikrob diberikan pada Gambar 2. Zona bening di sekitar kertas cakram jelas menunjukkan bahwa semua ekstrak menghambat keempat jenis patogen. Diameter zona hambat dirangkum pada Tabel 5.

Hasil pengamatan kami jelas memperlihatkan potensi ekstrak daun paku sarang burung dalam untuk menghambat pertumbuhan keempat bakteri. Penelitian serupa oleh Jaria *et al.* (2015) yang menggunakan pelarut metanol melaporkan penghambatan *P. aeruginosa* dengan nilai KHM 50%. Kandou dan Dingsei (2018) menemukan bahwa ekstrak metanol mampu menghambat bakteri Gram negatif *E. coli* dengan zona hambat terbesar pada konsentrasi 90% dan daya hambat 12,50 mm. Sementara itu, Nath *et al.* (2013) menyatakan bahwa ekstrak etanol mampu menghambat *S. aureus* dengan zona hambat 10 mm pada nisbah ekstrak dan pelarutnya 1:1.

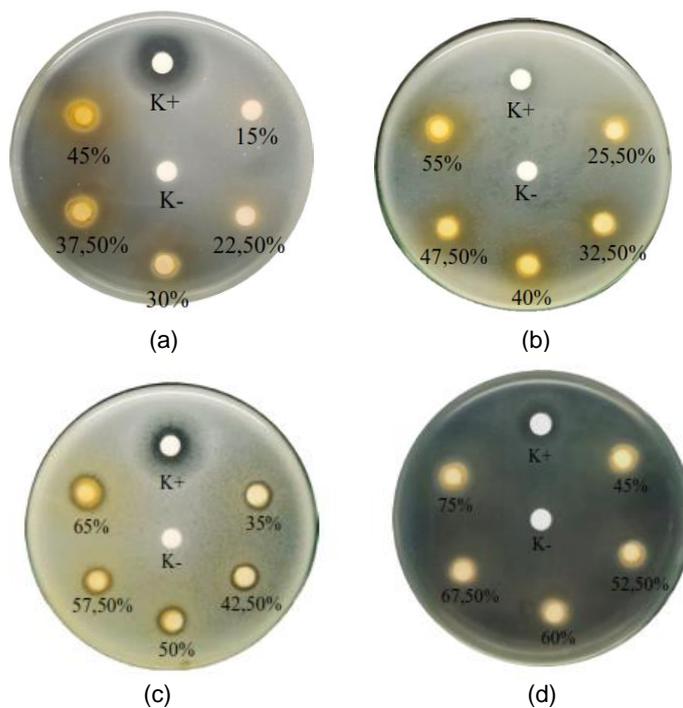
Berdasarkan temuan *et al.* (2017), daun *A. nidus* berpotensi menghambat *P. aeruginosa* dengan nilai KHM 6,25% jika diekstraksi dengan pelarut etil asetat, 12,5% jika menggunakan pelarut kloroform, dan konsentrasi >25% jika pelarutnya adalah *n*-



Gambar 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Paku Sarang Burung; (a) Uji flavonoid, (b) Uji alkaloid (Wagner), (c) Uji alkaloid (Dreagendorff), (d) Uji triterpenoid, (e) Uji steroid, (f) Uji saponin, (g) Uji fenol, (h) Uji kuinon, (i) Uji tanin.

Tabel 4 Hasil uji penentuan awal KHM ekstrak daun paku sarang burung (*Asplenium nidus*)

Perlakuan (%; g/mL)	Rata-rata zona hambat (mm)			
	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>B. subtilis</i> ATCC 19659	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	<i>S. aureus</i> ATCC 6538
K+ (Kloramfenikol)	14,55	15,33	18,85	13,50
K- (DMSO 40)	0,00	0,00	0,00	0,00
10	6,73	1,30	8,56	8,06
20	8,20	4,30	9,46	8,60
30	9,15	5,21	10,65	9,08
40	11,58	9,90	14,10	8,93
50	12,31	10,73	15,25	9,50
60	13,06	12,30	15,60	12,06
70	13,55	13,86	16,45	11,98
80	15,16	14,51	16,93	6,533
90	15,46	15,56	16,25	13,83
100	16,83	15,95	18,13	15,23



Gambar 2 Efektivitas antimikrob ekstrak daun *Asplenium nidus* terhadap (a) *Pseudomonas aeruginosa*, (b) *Escherichia coli*, (c) *Bacillus subtilis*, dan (d) *Staphylococcus aureus*.

Tabel 5 Efektivitas ekstrak daun *Asplenium nidus* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri patogen	Perlakuan (%)	Rata-rata diameter zona hambat ± SD	Kategori zona hambat
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	K- (DMSO 40)	0,00±0,00 ^a	Lemah
	15,00	5,93±1,40 ^b	Sedang
	22,50	8,99±0,52 ^c	Sedang
	30,00	12,10±0,72 ^d	Kuat
	37,50	13,68±0,30 ^e	Kuat
	45,00	14,16±0,70 ^e	Kuat
	K+ (Kloramfenikol)	19,86±2,53 ^f	Kuat
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	K- (DMSO 40)	0,00±0,00 ^a
25,00		7,64±0,76 ^b	Sedang
32,50		9,18±0,91 ^c	Sedang
40,00		11,92±0,90 ^d	Kuat
47,50		13,16±0,89 ^e	Kuat
55,00		13,68±0,23 ^e	Kuat
K+ (Kloramfenikol)		19,20±1,27 ^f	Kuat
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 19659		K- (DMSO 40)	0,00±0,00 ^a
	35,00	10,12±1,28 ^b	Kuat
	42,50	11,18±0,87 ^{bc}	Kuat
	50,00	12,20±1,00 ^{cd}	Kuat
	57,50	13,64±1,41 ^{de}	Kuat
	65,00	14,80±1,22 ^e	Kuat
	K+ (Kloramfenikol)	17,50±1,34 ^f	Kuat
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	K- (DMSO 40)	0,00±0,00 ^a
45,00		9,78±0,43 ^b	Sedang
52,50		10,20±0,21 ^{bc}	Kuat
60,00		10,60±0,28 ^{cd}	Kuat
67,50		10,88±0,08 ^d	Kuat
75,00		11,96±0,35 ^e	Kuat
K+ (Kloramfenikol)		13,90±0,60 ^f	Kuat

heksana. Terhadap *E. coli*, nilai KHM sebesar 3,125% dengan pelarut etil asetat, 6,25% dengan klorofom, dan konsentrasi >25% dengan pelarut *n*-heksana. Terhadap *B. subtilis*, nilai KHM adalah

12,5% dengan pelarut *n*-heksana, 6,25% dengan klorofom, dan 6,25% dengan etil asetat. Terhadap *S. aureus*, nilai KHM 0,782% untuk ekstrak etil asetat, 3,125% untuk ekstrak klorofom, dan 6,25% untuk

ekstrak *n*-heksana. Hasil-hasil studi tersebut menegaskan bahwa pelarut pengekstraksi yang berbeda memengaruhi senyawa fitokimia yang didapatkan dan juga memengaruhi kemampuannya sebagai antibakteri.

Kemampuan ekstrak daun paku sarang burung dalam menghambat pertumbuhan bakteri diduga karena kandungan flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin. Golongan senyawa flavonoid mampu menghambat bakteri melalui 3 mekanisme, yaitu dengan cara menghambat metabolisme energi, menghambat fungsi dari membran sel, dan menghambat sintesis asam nukleat (Hendra 2011). Pada penghambatan fungsi membran sel, flavonoid membentuk protein ekstraseluler menjadi senyawa kompleks dan akan terlarut yang menyebabkan membran sel menjadi rusak dan senyawa intraseluler akan keluar. Pada penghambatan sintesis asam nukleat, flavonoid melibatkan cincin A dan cincin B yang berperan dalam ikatan hidrogen, yaitu dengan cara menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Pada penghambatan metabolisme energi, flavonoid mencegah bakteri dalam penggunaan oksigen; flavonoid menghambat sitokrom C reduktase sehingga pembentukan energi di sitoplasma akan terhambat, kemudian juga mencegah motilitas bakteri dalam aktivitas pembentukan antimikrob (Cushnie & Lamb 2005).

Selain flavonoid, golongan fenolik juga menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Palczar dan Chan (1988), dinding sel dan membran sitoplasm bakteri tersusun atas protein; Ketika senyawaan fenolik dan protein bertemu, akan terbentuk ikatan hidrogen, akibatnya struktur protein menjadi rusak. Dengan rusaknya struktur protein pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri, akibatnya ialah ketidakseimbangan ion dan makromolekul di dalam sel sehingga sel menjadi lisis.

Pada hasil uji fitokimia, ekstrak daun paku sarang burung menunjukkan hasil positif pada uji saponin. Saponin juga dapat bersifat sebagai antibakteri. Zat aktif yang ada pada permukaan bakteri mempunyai sifat yang sama dengan detergen yang menyebabkan turunnya tegangan permukaan pada dinding sel sehingga permeabilitas dinding sel menjadi rusak dan mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Harbone 1996). Saponin masuk ke dalam sel dengan cara berdifusi melalui dinding sel yang rentan dan membran luar dan mengikat membran sitoplasma. Akibat diikatnya membran sitoplasma, kestabilan membran sel menjadi terganggu yang menyebabkan sitoplasma bocor keluar sel dan berakibat pada kematian sel. Antimikrob yang mengganggu membran sitoplasma ini bersifat bakteriosida (Cavalieri 2005).

Uji fitokimia juga menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder tanin. Kemampuan tanin dalam menginaktifkan enzim ialah melalui inaktivasi adhesin pada sel mikroba dan mengganggu transpor protein lapisan dalam sel, membuat senyawaan tanin mempunyai aktivitas antibakteri (Cowan 1999). Tanin juga menyebabkan

pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna karena terganggunya polipeptida pada dinding sel bakteri yang menyebabkan tekanan osmotik sehingga sel bakteri akan lisis (Sari & Sari 2011). Menurut Nuria *et al.* (2009), tanin juga dapat menghambat DNA topoisomerase dan enzim reverse transkriptase yang menyebabkan sel bakteri tidak akan terbentuk.

Dari hasil pengukuran zona hambat yang kemudian dianalisis dengan uji ANOVA, dengan $F_{hitung} > F_{tabel}$, ialah pada *P. aeruginosa* (144,132 > 3,26); *E. coli* (264,274 > 3,26), pada *B. subtilis* (124,293 > 3,26), dan pada *S. aureus* (867,351 > 3,26). Dari hasil uji ANOVA ini didapat nilai signifikansi yang menunjukkan bahwa ekstrak daun paku sarang burung berpengaruh nyata pada pertumbuhan keempat bakteri.

Uji Duncan digunakan untuk mengevaluasi konsentrasi ekstrak mana yang mempunyai nilai rata-rata yang sama dan yang tidak sama dengan memberikan notasi pada setiap konsentrasi. Menurut Purwanti *et al.* (2016), untuk setiap notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berbeda nyata, sedangkan setiap notasi yang sama pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan tidak berbeda nyata. Hasil uji Duncan tertera pada Tabel 5.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dari daun *Asplenium nidus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 8739, *P. aeruginosa* ATCC 15442, dan *B. subtilis* ATCC 19659. Konsentrasi paling efektif ekstrak daun paku sarang burung ini dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen uji, ialah terhadap *P. aeruginosa* dengan konsentrasi 45% dan daya hambat 14,16 mm, terhadap *E. coli* dengan konsentrasi 55% dan daya hambat 13,68 mm, terhadap *B. subtilis* dengan konsentrasi 65% dan daya hambat 14,80 mm, dan terhadap *S. aureus* dengan konsentrasi 75% dan daya hambat 11,96 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah R. 2020. Kandungan Fenol dan Flavonoid Pada Tumbuhan Paku Sarang Burung (*Asplenium nidus* L.) di Garahanan Gumitir Kabupaten Jember. [Skripsi]. Jember (ID): Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember
- Cappuccino JG, Natalie S. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*, 8th Ed. Jakarta (ID): EGC. 13, 290.
- Cavalieri SJ, Rankin ID, Harbeck RJ, Sautter RS, McCarter YS, Sharp SE, Ortez JH, Spiegel CA. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. USA: American Society for Cushman TP,

- Lamb AJ. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Cowan MM. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. (12): 564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- Dahlan MS. 2014. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*, 6th Ed. Jakarta (ID): Epidemiologi Indonesia: 7–33.
- Davis WW, Stout TR. 1971 In Ouchari L, Boukeskase A, Bouizgarne B, Ouhdouch Y. 2019. Antimicrobial potential of actinomycetes isolated from the unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity. *Biology Open*. 8(2): 1–7.
- Djamil R, Tria, A. 2009. Penapisan Ftokimia, Uji BSLT, Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 7(2): 65–71.
- Endarini LH. 2014. *Farmakognisi dan Fitokimia*. Jakarta (ID): Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Harbone JB, (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan dari Phytochemical Methods oleh Kosasi Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung (ID): Penerbit ITB.
- Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY. 2011. Oskoueian E. Flavonoid Analyses And Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *International Journal of Molecular Sciences*. (12): 3422–3431. <https://doi.org/10.3390/ijms12063422>
- Jarial R, Kanwar SS, Thakur S, Singh L, Sakinah M, Zularisam AW, Amit S. 2018. Potent Anticancer, Antioxidant and Antibacterial Activities of Isolated Favonoids From *Asplenium nidus*. *Journal of King Saud University Science*. (30): 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.11.006>
- Jarial R, Kanwar SS, Thakur S, Singh L, Sakinah M, Zularisam AW, Amit S. 2015. Potent Anticancer, Antioxidant and Antibacterial Activities of Isolated Favonoids From *Asplenium nidus*. *Journal of King Saud University Science*. 30: 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.11.006>
- Jawetz E, Melnick EA, Adelberg GF. 2015. *Medical Microbiology*. 27th Ed. The McGraw-Hill Companies: Inc: 95, 172, 231, 245–247, 683.
- Kandou FEF, Paniangan D. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku *Adiantum capillus-veneris* dan *Asplenium nidus* Terhadap Bakteri Gram Negatif *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 7(1): 25–28. <https://doi.org/10.35799/jm.7.1.2018.19010>
- Kashani HH, Elahe SH, Hosein N, Mohammad, HA. 2012. Pharmacological Properties of Medicinal Herbs by Focus Secondary Metabolites. *Life Science Journal*. 9(1): 509–520.
- Makhmud M. 2018. Inventarisasi Tumbuhan Paku (Pterydophyta) Berpotensi Obat di Hutan Pinus Desa Garahan Kecamatan Silo Kabupaten Jember. [Skripsi]. Jember (ID): FMIPA Universitas Jember.
- Nigam, Poonam. 2013. Microbial Enzymes with Special Characteristics for Biotechnological Applications. *Biomolecules*. 3: 597–611. <https://doi.org/10.3390/biom3030597>
- Ningsih DR, Zufahair, Kartika D. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Molekul*, 11(1): 101–111. <https://doi.org/10.20884/1.jm.2016.11.1.199>
- Nuria, Maulita C, Faizaitun, Arvin, Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923, *Escherichia coli* Atcc 25922, *Salmonella typhi* Atcc 1408. *Mediagro*. 5(2): 26–37.
- Palczar JM, Chan ECS. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta (ID): Penerbit UI Press.
- Purwati NU, Susanti R. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antifungal Ekstrak Etanol Rimpong *Acaria* sp. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*. 1(2): 256–268.
- Sari FP, Sari, SM. 2011. *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (Jatropha multifida Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*. Semarang (ID): Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Sarker SD, Zahid L, Alexander IG. 2006. *Methods in Biotechnology: Natural Product Isolation 2th Ed*. New Jersey (US): Human Press.
- Sholekah FF. 2017. Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Flavonoid Dan Beta Karoten Buah Karika (*Carica Pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi*. [online] Yogyakarta (ID): Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Tahir MM, Hassan NS, Dyari HRE, Yaacob WA, Ibrahim N. 2017. Phytochemistry, Antibacterial And Antiviral Effects of the Fractions of *Asplenium Nidus* Leaves Aqueous Extract. *Journal of Malay*. 46 (1): 207–212.