



ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF METHANOL EXTRACT FROM STEM BARK OF *Cinnamomum sintoc*

Nurdin Saidi*, Hira Helwati, Lailatul Qhadariah Lubis,
Muhammad Bahi

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala,
Banda Aceh, 23111, Indonesia

*Email: noersaidi@yahoo.com

Abstract. Antimicrobial activity of methanol extract from stem bark of *Cinnamomum sintoc* has been evaluated against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The extraction of compound was carried out by maceration, then isolation by column chromatograph, which yielded five (5) subfractions (A-E). Activity against fungus *C. albicans*, *S. aureus* bacteria dan *E. coli* using agar dilution method in paper disk. Methanol extract was not potent against antifungal activity but shows antibacterial activity with medium category. Subfraction C showed that antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli* with weak category, but subfractions D and E did not show any activity.

Keywords: *Cinnamomum sintoc*, Lauraceae, antifungal and antibacterial.

I PENDAHULUAN

Cinnamomum sintoc merupakan tumbuhan dari famili Lauraceae yang tersebar di kawasan Asia Tenggara terutama di Indonesia [1]. Kandungan senyawa dan aktivitasnya terhadap bakteri tumbuhan ini belum banyak dilaporkan. Namun, genus *Cinnamomum* telah dikaji kandungan kimia dan aktivitasnya terhadap berbagai jenis bioindikator. Minyak atsiri dari spesies *C. osmophloeum* menunjukkan aktivitas antifungal dengan nilai IC_{50} sebesar 52-59 $\mu\text{g/mL}$ terhadap jamur *Trametes versicolor* dan *Lenzites betulina* [2]. Genus *Cinnamomum* lain yang sudah dikaji aktivitasnya terhadap berbagai indikator antara lain adalah *C. zeylanicum* Blume. Minyak atsiri tumbuhan ini menunjukkan aktivitas terhadap *E. coli* ATCC 25922 (MIC = 0.80 mg/mL) dan terhadap *S. aureus* ATCC 25923 (MIC = 0.20 mg/mL) dan aktivitas antifungal terhadap *Candida albicans* (MIC = 0.40 mg/mL) [3]. Ekstrak kasar dan kandungan kimia 30 spesies *cinnamomum* telah dikaji. Hasil kajian menunjukkan bahwa spesies tersebut memiliki aktivitas yang signifikan terhadap antibakterial, antifungal, antiseptik, antiviral, anti-inflamatori, antipiretik, antioksidan, kemopreventif, sitotoksik, antidiabetik, hipolipidemik, antispasmodik, antiulcer, antiplatelet, anodine, koloretik, immunostimulan, anaestesi dan sedative [4]. Hasil kajian pendahuluan terhadap *C. aromaticum* menunjukkan bahwa minyak atsiri

spesies ini berpotensi sebagai antibakterial [5]. Kajian etnobotani membuktikan bahwa tumbuhan *C. sintoc* telah digunakan sebagai bahan obat-obatan terhadap penyakit yang disebabkan oleh jamur dan bakteri. sariawan, rematik, antiinflamasi, kejang perut dan disentri [6]. Paper ini membahas tentang aktivitas antimikrobia dan fungal ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *C. sintoc*.

II. METODOLOGI

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat gelas yang umum dan digunakan di laboratorium kimia organik. Seperangkat alat untuk uji mikrobial dan antifungal yang telah disterilkan terlebih dahulu di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. *Rotary evaporator*, inkubator, kolom untuk kromatografi, *sprayer* untuk uji fitokimia. Bahan yang digunakan adalah reagensia untuk uji fitokimia, beberapa pelarut organik dalam jenis industrial maupun analitik. Silika gel 60 dan G-60 70-230 mesh ASTM (Merck 774). Bahan-bahan untuk uji antibakterial dan fungal. Bahan tumbuhan *C. sintoc* diambil di Kecamatan Serba Jadi, Lokop, Aceh Timur pada bulan November 2010. *Voucher specimen* disimpan di laboratorium herbarium Jurusan Biologi, FMIPA, Unsyiah dan diidentifikasi pada laboratorium tersebut.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan dengan metode yang sudah baku terhadap metabolit sekunder golongan alkaloid, steroid, terpenoid, saponin dan flavonoid [7].

Ekstraksi dan isolasi

Kulit batang *C. sintoc* (1,5 kg) yang sudah dikeringanginkan, dibasakan dengan ammonia. Sampel dimaserasi menggunakan *n*-heksana selama 3×24 jam, disaring dan dipekatkan. Residu dimaserasi kembali dengan diklorometana (DCM) selama 3×24 jam, disaring dan dipekatkan, sehingga diperoleh ekstrak DCM. Residu dimaserasi kembali dengan metanol 3×24 jam, disaring dan dipekatkan. Ekstrak metanol, sebagian digunakan untuk uji hayati dan sebagian lagi untuk isolasi. Ekstrak metanol (10 g) dikemas dalam kolom kromatografi menggunakan pelarut diklorometana:metanol secara gradient elusi. Perbandingan kedua pelarut yang digunakan dimulai dari 100% diklorometana sampai perbandingan DCM:metanol (50:50). Fraksi-fraksi ditampung setiap 50 mL dan masing-masing fraksi dilakukan indentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fraksi yang memiliki pola noda sama dilakukan penggabungan menjadi beberapa sub-fraksi. Masing-masing sub fraksi dilakukan KLT dan diuji hayati.

Uji Hayati

1. Uji Antifungal

Uji aktivitas antifungal dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan cakram kertas dan media yang digunakan adalah SDA. Kandungan media SDA dalam volume 1 L adalah dekstrosa (4 g), agar (15 g) dan pepton (10 g). Tahap awal pembuatan media adalah bubuk SDA (20 g) dilarutkan ke dalam 500 mL aquades dan dipanaskan selama 1 menit. Media tersebut disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan didinginkan sampai 45°C. Media yang telah disterilkan dituangkan 10 mL ke dalam cawan petri sebagai lapisan dasarnya. Tahap akhir adalah bubuk SDA (20 g) dilarutkan kedalam 500 mL aquades untuk media inokulasi jamur *C. albicans*. Media dipanaskan hingga terlarut semua. Setelah terlarut, dibagi ke dalam beberapa erlenmeyer 250 mL dengan masing-masing sebanyak 10 mL dan disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Setelah media dingin ditambahkan 1 mL suspensi jamur, dan dihomogenkan. Media yang telah

diinokulasi dengan jamur dituangkan ke atas media lapisan dasar. Guncang agar merata dan dibiarkan membeku. Uji antifungal dilakukan dengan meletakkan cakram yang telah dicelupkan pada larutan uji pada konsentrasi 5, 10, 20 dan 40 % (b/v), kontrol negatif, dan kontrol positif (nistatin). Jarak setiap cakram diatur tidak terlalu berdekatan di atas media uji. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan jamur diamati setiap area dan zona hambat diukur menggunakan penggaris dalam satuan millimeter (mm).

2. Uji Antibakterial

Semua peralatan yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Koloni bakteri diambil menggunakan pipet mikro, lalu disuspensikan kedalam media NB steril. Kemudian dishaker selama ±12 jam. Selanjutnya absorbansinya diukur menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm hingga nilai OD nya mencapai 0,5-0,8. Media yang digunakan adalah NA yang telah dilarutkan dalam aquades, kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setiap cawan petri yang telah diisi dengan media NA sebanyak 10 mL dan dibiarkan hingga memadat. Suspensi bakteri diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam 10 mL media NA cair yang sudah disterilkan. Media tersebut diaduk dan dimasukkan ke dalam media padat. Uji antibakterial dilakukan dengan meletakkan cakram yang telah dicelupkan pada larutan uji pada konsentrasi 5, 10, 20 dan 40 % (b/v), kontrol negatif, dan kontrol positif (kloramfenikol). Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati setiap area dan zona hambat diukur menggunakan penggaris dalam satuan millimeter (mm). Bila zona hambatan belum terlihat, maka dibiarkan selama 24 jam kembali.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap sampel segar, ekstrak metanol (Tabel 1) dan setiap subfraksi (Tabel 2). Uji fitokimia ini adalah identifikasi terhadap golongan metabolit sekunder alkaloid, steroid, terpenoid, saponin steroid, saponin terpenoid dan flavonoid. Analisis fitokimia sampel segar dan ekstrak metanol menunjukkan bahwa terdapat kandungan alkaloid. Jenis senyawa yang

terdapat dalam ekstrak ini merupakan alkaloid yang relatif polar, misalnya alkaloid yang banyak memiliki gugus hidroksil maupun alkaloid jenis *N*-oksida. Tumbuhan *C. sintoc* merupakan famili Lauraceae yang dikenal banyak mengandung metabolit sekunder alkaloid. Kandungan alkaloid famili Lauraceae umumnya adalah alkaloid jenis benzisokuinolin, aporfin atau oksoaporfin, walaupun kadangkala juga mengandung alkaloid jenis fenantren [8,9,10].

Tabel 1 Hasil uji fitokimia dari kulit batang tumbuhan *C. sintoc*

Kelompok metabolit sekunder	Sampel segar	Ekstrak methanol
Alkaloid	+	+
Steroid	+	-
Terpenoid	+	+
Saponin steroid	-	-
Saponin terpenoid	+	+
Flavonoid	-	-

Tabel 2 Hasil uji fitokimia setiap subfraksi dari kulit batang tumbuhan *C. sintoc*

Sub fraksi	Kelompok senyawa
A	Alkaloid dan terpenoid
B	Alkaloid dan terpenoid
C	Alkaloid, terpenoid dan saponin terpenoid
D	Alkaloid, terpenoid dan saponin terpenoid
E	Alkaloid, terpenoid dan saponin terpenoid

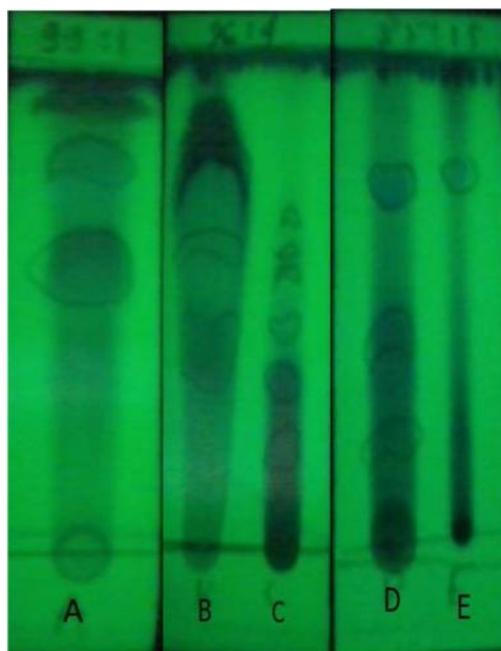
Sampel segar mengandung senyawa kelompok steroid, namun tidak demikian untuk ekstrak methanol. Jenis steroid dalam sampel segar merupakan senyawa yang relatif non polar atau semi polar. Isolasi senyawa dari famili Lauraceae menunjukkan adanya senyawa steroid, sterol yang relatif semi polar [11]. Sampel segar dan ekstrak metanol, keduanya mengandung senyawa kelompok terpenoid dan saponin terpenoid. Beberapa genus *Cinnamomum* diketahui mengandung senyawa golongan terpenoid. Dua spesies *Cinnamomum*, yaitu *C. camphora* and *C. tamala* dilaporkan mengandung senyawa jenis sesquiterpenoid [12].

Analisis fitokimia flavonoid telah dilakukan, namun ekstrak segar dan ekstrak metanol tidak menunjukkan adanya senyawa golongan ini. Pada penelitian ini sebelumnya menunjukkan bahwa beberapa genus *Cinnamomum*, *C. burmanni*, *C. cassia*, *C. pauciflorum*, *C. tamala* dan *C. zeylanica* mengandung senyawa golongan flavonoid [13]. Perbedaan ini disebabkan oleh beberapa faktor antara lain tempat tumbuh dan iklim.

Hasil analisis fitokimia subfraksi (Tabel 2) menunjukkan bahwa sub fraksi A dan B mengandung senyawa golongan alkaloid dan terpenoid. Sub fraksi C, D dan E mengandung alkaloid, terpenoid dan saponin terpenoid. Saponin terpenoid merupakan kelompok senyawa polar, sehingga tidak terdapat dalam sub fraksi A dan B yang relatif lebih non polar.

Ekstraksi dan Isolasi

Ekstraksi 1,5 kg kulit batang tumbuhan *C. sintoc* menggunakan *n*-heksan, diklorometana dan metanol diperoleh ekstrak masing-masing 5,5 g diklorometana 18,0 g dan 30,86 g. Ekstrak metanol (10 g) dilakukan isolasi menggunakan kolom kromatografi dengan sistem elusi gradien. Fasa diam yang digunakan adalah Silika gel G-60. Fasa gerak yang digunakan adalah diklorometana dan methanol dengan perbandingan masing-masing 100:0, 98:2, 96:4, 93:7, 90:10, 85:15, 80:20, 70:30, dan 50:50. Eluat ditampung 40 mL setiap fraksi. Fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom sebanyak 109 fraksi. Setiap fraksi dilakukan KLT untuk menentukan pola noda yang mirip. Hasil KLT (Gambar 1) diperoleh lima kelompok sub fraksi, yaitu A (1-3, 440 mg), B (4-33, 480 mg), C (17-23, 1330 mg), D (34-59, 650 mg) dan E (60-109, 870 mg).



Gambar 1 Pola noda KLT sub fraksi A-E

Aktivitas Antifungal dan Antibakterial Ekstrak Metanol

Hasil uji antifungal ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *C. sintoc* (Gambar 2) tidak

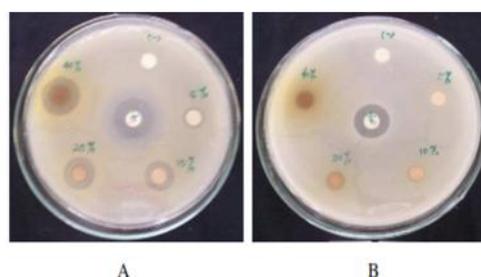
menunjuk aktivitas daya hambat terhadap jamur *C. albicans*, walaupun, kontrol positif menunjukkan aktivitas yang tinggi (16 mm). Hasil uji antifungal tersebut berbeda dengan beberapa spesies *Cinnamomum*. Minyak atsiri kulit batang *C. sulphuratum* menunjukkan daya hambat terhadap *Aspergillus flavus* MTTC 2799 dan *C. albicans* MTTC 3017. Minyak atsiri kulit batang *C. walaiwarensense* menunjukkan aktivitas yang baik terhadap *C. albicans* MTTC 3017. Minyak atsiri kulit batang *C. travancoricum* memiliki daya hambat yang tinggi terhadap *C. albicans* MTTC 3017 dan *Penicillium notatum*. Minyak atsiri *C. malabatrum* memiliki aktivitas terhadap *A. niger* MTTC 1344 dan *C. albicans* MTCC 3017 [14]. Perbedaan aktivitas antara perlakuan dengan literatur disebabkan oleh perbedaan kandungan kimia. Pada literatur menggunakan minyak atsiri, sementara pada perlakuan menggunakan ekstrak metanol.



Gambar 2 Aktivitas antifungal ekstrak metanol terhadap *C. albican*

Aktivitas antibakterial ekstrak metanol menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang lebih besar dibandingkan pada bakteri *E. coli* (Gambar 3). Diameter zona hambat () pada bakteri *S. aureus* sebesar 11,92; 13,7; 14,68; 16,8 mm dan pada *E. coli* memiliki diameter zona hambat () 7,4; 7,85; 8,43; 9,18 mm dengan konsentrasi masing-masing 5, 10, 20 dan 40%. Zona hambat tersebut jika dibandingkan dengan diameter zona hambat () kontrol positif sebesar 25,3 mm, ekstrak kulit batang *C. sintoc* terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi terendah 5% (b/v) memiliki diameter zona hambat () yang termasuk dalam tingkat lemah, yaitu sebesar 11,92 mm yang menunjukkan bahwa zona hambat ini tidak mencapai setengah dari zona hambat kontrol positif. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar juga diameter zona hambat () yang dihasilkan yaitu pada konsentrasi 10, 20 dan 40% memiliki

diameter zona hambat () 13,7; 14,68 dan 16,8 mm yang dimana kekuatan daya hambat termasuk dalam tingkat sedang. Sedangkan apabila dibandingkan dengan diameter zona hambat () kontrol positif terhadap bakteri *E. coli* sebesar 15,95 mm, ekstrak kulit batang *C. sintoc* pada konsentrasi 5% dan 10% (b/v) juga memiliki diameter zona hambat () yang termasuk dalam tingkat lemah, yaitu sebesar 7,4 dan 7,85 mm menunjukkan bahwa zona hambat ini tidak mencapai setengah dari zona hambat kontrol positif. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar juga diameter zona hambat () yang dihasilkan yaitu pada konsentrasi 20 dan 40% memiliki zona hambat 8,43 dan 9,18 mm dimana diameter zona hambat () termasuk dalam tingkat sedang.



Gambar 3 Aktivitas antibakterial ekstrak metanol terhadap *E. coli* (A) dan *S. aureus* (B)

Senyawa yang terkandung pada ekstrak metanol diduga memberikan kontribusi terhadap antibakterial karena adanya kerja dari senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tersebut yaitu meliputi senyawa alkaloid, terpenoid dan saponin terpenoid.



Gambar 4 Aktivitas antibakterial sub fraksi terhadap *E. coli* (A) dan *S. aureus* (B)

Aktivitas Antibakterial Subfraksi

Aktivitas antibakterial juga dilakukan untuk sub fraksi C, D dan E. Hasil pengujian (Gambar 4) menunjukkan bahwa subfraksi C adalah subfraksi paling aktif yang dilihat dari zona hambat untuk hampir semua konsentrasi lebih besar dari subfraksi lainnya. Subfraksi D dan E tidak memiliki aktivitas antibakterial

terhadap bakteri *E. coli*, karena tidak menunjukkan adanya zona hambat. Namun pada subfraksi C memiliki zona hambat sebesar 7,0; 7,4 dan 7,7 mm. Sedangkan subfraksi C juga menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 8; 8,3 dan 9 mm. Berdasarkan pendekatan secara kemotaksonomi, ekstrak metanol tumbuhan genus *Cinnamomum* memiliki aktivitas antibakterial terhadap beberapa bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Salmonella typhi* (tifus) dan *Pseudomonas eruginosa* [15]. Daya hambat pertumbuhan bakteri tersebut, jika dibandingkan dengan diameter zona hambat () kontrol positif sebesar 14 mm terhadap bakteri *S. aureus*, maka aktivitas pada semua konsentrasi tersebut tergolong dalam tingkat sedang.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol tumbuhan *C. sintoc* tidak menunjukkan aktivitas antifungal terhadap *C. albicans*, namun memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada kategori sedang. Uji aktivitas terhadap subfraksi C menunjukkan aktivitas antibakterial yang lemah terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Subfraksi D dan E tidak menunjukkan aktivitas antibakterial.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini sesuai kontrak Nomor 385/UN11/A.01/APBN-P2T/2013 tanggal 29 April 2013 Tahun 2013 melalui penelitian Hibah Bersaing. Terimakasih juga diucapkan kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

REFERENSI

1. Ng, F. S. P. (1989, *Tree Flora of Malaya: A Manual for Forester*, Longman Malaysia, Kuala Lumpur, 4, pp.132-180.
2. Cheng, S. S., Liu, J.Y., Hsui, Y. R., dan Chang, S.T. 2006. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Bioresource Technology*. 97 (2): 306-312.
3. Boniface, Y., Philippe, S., Rose de Lima, H., Pierre, N. J., Alain, A. G., Fatiou, T., Dominique, S., 2012. Chemical composition and antimicrobial activities of cinnamomum zeylanicum blume dry leaves essential oil against food-borne pathogens and adulterated microorganism. *International Research Journal of Biological Science*.1(6): 18-25.
4. Balijepalli, M. K., Buru, A. S., Sakirolla, R., dan Pichica, M. R. 2017. Cinnamomum Genus: A Review On Its Biological Activities. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 9 (2), 1-11.
5. Ammar, S. S. M., Mokhtaria, K., Amar, A. M., Tahar, B. B., Moulay, D., Si Mohamed, H., dan Laid, B. 2017. Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Cinnamomum aromaticum* Essential Oil Against Four Enteropathogenic Bacteria Associated with Neonatal Calve's Diarrhea. *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 12 (1), 24-30.
6. Ogata, Y., Kasahara, Y., Mulyadi, Agus, R., Jamaluddin, Bambang, P., Simanulang, N., dan Fauzi, A. 1995. *Indeks Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia*, Edisi II, PT. Eisai Indonesia, Jakarta.
7. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan dari *Phytochemical Methods*, oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung. Hal. 4-38.
8. Saidi, N., A. Hamid, A. Hadi, Awang, K., and Mukhtar, M R., 2009. Aporphine alkaloids from bark of *Cryptocarya ferrea*, *Indo. J. Chem.*, 9 (3), 461 – 465.
9. Saidi, N., Morita, H., Litaudon, M., Mukhtar, M.R., Awang, K., and A. Hamid, A. Hadi. 2011. Benzylisoquinoline Alkaloids from Bark of *Cryptocarya rugulosa*. *Indo. J. Chem.*, 11 (1), 59-66.
10. Awang, K., A. Hamid, A. Hadi, Saidi, N., Mukhtar, M.R., Morita, H., and Litaudon, M. 2008. New Phenanthrene alkaloids from *Cryptocarya crassinervia*, *Fitoterapia*. 79 (2), 308–310.
11. Saidi, N., 2009. Isolation and Structure Elucidation of Sterols from *Cryptocarya rugulosa*. *Jurnal Natural*. 9 (2). 27-31.
12. Joshi, S. C., Padalia, R. C., Bisht, D. S. dan Mathela, C. S. 2009. Terpenoid Diversity in the Leaf Essential Oils of Himalayan Lauraceae Species. *Chem. Biodivers*, 6 (9), 1364-1373.
13. Prasad, K. N., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H., dan Jiang, Y. 2009. Flavonoid contents and antioxidant

- activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10, 627-632.
14. Mariddass, M., 2009. Screening of antifungal activities of barks of *Cinnamomum* specie. *Thai J. Pharm. Sci.* 33. 137-143.
15. Sandigawad, B.M dan C.G. Patil, 2010, The *In Vitro* Antibacterial activity of *Cinnamomum* species. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 1:434-439.