

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Daun Tembelean (*Lantana camara* Linn) dan Uji Potensi Sebagai Senyawa Antibakteri Alami

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Daun Tembelean (*L. camara* Linn.) dan Uji Potensi Sebagai Senyawa Antibakteri Alami

Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compound contained in Chloroform Extract of Tembelean Leaves (*L. camara* Linn.) and Assay Potential a Natural Antibacteri Compound

¹St. Nurshulaiha Asma, ²Iwan Dini, ³Muhammad Danial

Jurusan Kimia Universitas Negeri Makassar, Jalan Mallengkeri Raya, 90224

Email: Iwan Dini@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak kloroform daun tembelean (*L. camara* Linn.) dan menguji aktivitas antibakteri isolat terhadap bakteri. Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap diantaranya ekstraksi, fraksinasi, pemurnian dengan kolom kromatografi, uji golongan, uji titik leleh, uji spektroskopi IR, dan uji spektroskopi NMR dan uji potensi antibakteri dengan metode difusi menggunakan medium agar. Hasil penelitian diperoleh isolat berupa kristal yang berbentuk jarum berwarna putih dengan titik leleh 212-213°C sebanyak 15,24 mg, uji dengan pereaksi FeCl₃ menunjukkan positif flavonoid. Data Spektrum IR menunjukkan beberapa gugus fungsi pada panjang gelombang (cm⁻¹) yakni 3300 (OH), 2926, 2866 (C-H pada CH₃ dan CH₂ulur), 1465, 1381 (C-H pada CH₃ dan CH₂ tekuk), 1138(C-O), 1230 (C-O fenol), 1072 (C-O aril eter), 1708, 1695 (C=O keton), 1649 (C=C aromatik), 821, 725 (C-H aromatik). ¹H-NMR menunjukkan adanya geseran kimia (cm⁻¹) yakni 3,894, 4,042, 6,577, 6,591, 7,012, 7,029, 7,833, 7, 851 (H pada C-H aromatik) dan 13,086 (H pada alkohol) menunjukkan bahwasenyawa yang diperoleh memiliki kemiripan dengan senyawa flavonoid turunan flavon. Pengujian ekstrak kloroform dan beberapa fraksi KKT menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichiacoli*.

Kata kunci: *L. camara* Linn, Flavonoid, Flavon, Antibakteri, *S. aureus*, *E.coli*.

ABSTRACT

The purpose of this research to isolate and identify and secondary metabolite compound contained in chloroform extract of Tembelean leaves (*L. camara* Linn.) and Assay to its antibacterial activity. This research was carried out in several steps: extraction, fractionation, purification by column chromatography, colour test, infrared spectroscopy, and nuclear magnetic resonance spectroscopy and potential antibacterial test with diffusion with jelly medium. The obtained isolate of white-needle crystal, with melting point at 212-213°C had 15,24 mg weight, and positive to flavonoid reagent test. Infrared spectrum shows, the presence of several functional groups on the wavelength (cm⁻¹) is 3300 (OH), 2926, 2866 (C-H in CH₃ and CH₂stretching), 1465, 1381 (C-H in CH₃ and CH₂ bending), 1138 (C-O), 1230 (C-O phenol), 1072 (C-O aril eter), 1708, 1695 (C=O keton), 1649 (C=C aromatic), and 821, 725 (C-H aromatic). ¹H NMR spectrum that seems to suggest chemical shift (cm⁻¹) is 3,894, 4,042, 6,577, 6,591, 7,012, 7,029, 7,833, 7,851 (H in C-H aromatic) and 13,086 (H in alcohol). The compound flavonoid category flavone. Chloroform crude

extract, some fraction chromatography column flash and the isolate compound have antibacterial activity against characteristic to *Staphylococcus aureus* bakteri dan *Escherichia coli* bakteri.

Keywords: *L. camara* Linn, flavonoid, flavone, antibacterial, *S. aureus*, *E. coli*.

PENDAHULUAN

Tumbuhan yang banyak tumbuh disekitar lingkungan dibudidayakan karena memiliki manfaat dan nilai ekonomis yang tinggi bagi masyarakat. Beberapa tumbuhan mengandung bahan-bahan yang bermanfaat, baik sebagai bahan pangan maupun sebagai bahan obat-obatan. Penggunaan tumbuhan sebagai obat cenderung mengalami peningkatan dengan adanya isu back to nature. Tumbuhan yang berkhasiat obat juga dianggap hampir tidak memiliki efek samping yang membahayakan. Hal ini didukung dengan maraknya produk obat-obatan herbalis yang diperjual belikan di pasaran, (Hara, 2013).

Sejak dahulu masyarakat Indonesia terutama penduduk pedesaan sudah mengenal dan memakai tumbuhan berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dan penanggulangan masalah kesehatan yang dihadapinya. Hal ini telah dilakukan jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern menyentuh masyarakat (Wijayakusumah *et al.*, 1995 dalam Romundang Bulan, 2010).

Hasil analisis komposisi kimia menunjukkan bahwa pada tumbuh-tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda. Sebanyak 95% tumbuhan mengandung polifenol, 80% mengandung flavonoid, 77% mengandung glikosida, 69% mengandung steroid, 67% mengandung saponin, 61% mengandung tanin, 57% mengandung alkaloid, dan 15% mengandung anthranoid (Amusan *et al.*, 2007).

Tumbuhan tembelean (*L. camara* Linn.) tumbuhan yang potensial dan sangat strategis dikembangkan sebagai sumber pengkajian formula dan penelusuran senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai obat. Potensial ini dilihat berdasarkan pendekatan etnobotani yaitu pendekatan yang didasarkan pada pengetahuan dan kebiasaan masyarakat tradisional dalam memanfaatkan tumbuhan untuk pengobatan terhadap penyakit tertentu. (Deshmukhe *et al.*, 2011).

Di Indonesia, khususnya Sulawesi Selatan tumbuhan tembelean digunakan sebagai obat anti luka dan dipercaya mampu menyembuhkan berbagai jenis luka pada kulit dengan sangat cepat. Potensi yang kedua adalah jenis tumbuhan yang mudah tumbuh dan merupakan tumbuhan liar, pertumbuhannya sangat pesat, dapat dipelihara dan ditemukan di semua daerah khususnya di Sulawesi Selatan.

Beberapa penelitian sebelumnya telah menginformasikan bahwa tumbuhan *L. camara* Linn. mengandung senyawa kimia triterpenoid antara lain; Lantaden A, Lantaden B, Lantaden C, Lantaden D, Asam oleanolat, Asam lantanilat, Isterogenin, Asam lantat, dan lain-lain. Barre *et al.* (1997) melaporkan bahwa triterpenoid pada *L. camara* Linn. menunjukkan aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *Salmonella typhi*. Juang *et al.* (2005) melaporkan tiga senyawa flavonoid yaitu hispidulin, pektolarigenin, dan pektolarin.

Penelitian yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya bahwa ekstrak

kloroform memiliki aktivitas yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* (Herlindah, 2010). Penelitian daya hambat ekstrak kloroform daun tumbuhan ini terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* menunjukkan daya hambat yang tinggi dan potensi mengandung senyawa antibakteri (Iwan Dini, 2010). Pada tahun 1994, Rini Asterina melakukan pemeriksaan flavonoid dan verbaskoid daun *L. camara* Linn. memperoleh adanya senyawa golongan flavonoid pada daun yang diekstrak dengan menggunakan etanol 95%. Golongan flavonoid ini tergolong sebagai senyawa flavonol. Tahun 1996, Tedjo Narko melakukan studi efek antibakteri dari minyak atsiri dari daun *L. camara* Linn. dan memperoleh bahwa minyak atsiri dari daun *L. camara* Linn. mempunyai efek antibakteri lebih besar terhadap *S. pyogenes*, sebaliknya menunjukkan efek antibakteri lebih kecil terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Berdasarkan pemeriksaan secara fitokimia pada tumbuhan ini ditemukan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan kuinon (Pian Sopyan Nurochman, 1996) juga senyawa lantaden XR glikosida, yaitu senyawa turunan flavonoid (Romundang Bulan, 2008). Hidayati *et al.* (2008), kandungan saponin dan flavonoid ekstrak etanol *L. camara* Linn tertinggi berturut-turut dapat dijumpai pada organ daun, akar, dan buah, sedangkan kandungan minyak atsiri tertinggi berturut-turut pada organ daun, buah, dan akar. Ekstrak alkohol menunjukkan aktivitas antibakteri melawan *E. coli*, *B. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*. Studi fitokimia menunjukkan adanya flavonoid, minyak atsiri, triterpenoid, alkaloid, dan karbohidrat. Kehadiran triterpenoid bertanggung jawab terhadap aktivitas

antibakteri pada tumbuhan ini (Mani *et al.*, 2010).

Ekstrak metanol dari daun memiliki toksisitas yang relatif tinggi yang berpotensi sebagai antitumor (Bulan, 2003). Tahun 2008, Bulan *et al.* mengisolasi senyawa lantaden X_R yaitu suatu senyawa turunan lantaden dari daun *L. camara* Linn berbunga merah dan bersifat sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 IC₅₀ 2,23 µg/mL.

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka peneliti memandang untuk perlu melakukan penelitian mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kloroform daun Tembelean (*L. camara* Linn.) dan mempelajari aktivitasnya sebagai antibakteri.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain neraca analitik, blender, pengayak, penangas air, hot-plate, oven, plat tetes, pinset, pipet tetes, chamber, gunting, pensil, cutter, mistar, statif dan klem, lampu UV254 – 365 nm, pipa kapiler, dan alat uji titik leleh. Alat-alat maserasi sampel seperti wadah maserasi, corong plastik, penyaring Buchner, pompa vakum, dan alat *rotary evaporator*. Alat-alat gelas seperti gelas kimia, corong biasa, batang pengaduk, gelas ukur, labu Erlenmeyer, corong pisah, botol vial, alat kromatografi kolom cair vakum (KKCV) dan kromatografi kolom flash (KKF). Alat uji spektroskopi diantaranya spektrometer IR merek Shimadzu® Prestige-21 dan NMR Agilent 500 MHz dengan sistem konsol DD2, yang beroperasi pada frekuensi 500 MHz (¹H) dan 125 MHz (¹³C). Adapun alat uji antibakteri yaitu LAF (Laminar Air Flow), freezer biakan, freezer medium, neraca analitik,

inkubator, autoklaf, oven, hot plate, labu erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, jangka sorong, batang pengaduk, kawat ose, pinset, spoit, cawan petridish, tabung reaksi dan rak.

Bahan-bahan yang digunakan dalam diantaranya serbuk halus daun *L. camara* Linn, pelarut organik teknis seperti n-heksana, etilasetat (EtOAc), metanol (MeOH), pelarut berkualitas pro analis (pa) aseton, kloroform (CHCl₃), reagen penampak noda serum sulfat (CeSO₄), reagen seperti FeCl₃, Mayer, Wagner, dan Liebermann-Burchard. Bahan-bahan lain seperti plat kromatografi lapis tipis (KLT) berlapis silika gel G 60 F₂₅₄, silika gel G 60 7733 (0,2-0,5 mm) untuk infreg, silika gel G 60 7734 (0,063-0,200 mm) untuk KKF, silika gel 60 H untuk KKCV, kertas saring Whatman 41, aluminium foil, tissue, selotip dan label. Bahan untuk uji bioaktivitas meliputi *nutrient agar*, *nutrient broth*, etanol (CH₃CH₂OH) kertas cakram terstandar, kapas, cotton bath, tissu, lampu spiritus, aquadest, kloramfenikol, isolate F₂, bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

B. Prosedur Kerja

1. Ekstraksi

Daun *L. camara* Linn yang diambil di Desa Sunggumanai Kec. Parangloe Kab. Gowa Sulawesi Selatan dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang, dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan dan ditimbang, diperoleh 4,7 kg serbuk halus daun. Selanjutnya dimaserasi dengan metanol sebanyak 3 kali selama 2x24 jam, diperoleh maserat metanol sebanyak ± 8,8 L. Maserat disaring menggunakan penyaring Buchner dengan bantuan pompa vakum. Ekstrak metanol

dipekatkan dengan *evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak ± 493 mL. Ekstrak kental metanol kemudian dipartisi dengan kloroform. Ekstrak kloroform dipekatkan dengan *evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental kloroform, selanjutnya diuapkan pada suhu ruang hingga diperoleh ekstrak kloroform padat sebanyak 14,303 g.

2. Fraksinasi

Ekstrak kloroform dianalisis secara KLT menggunakan eluen n-heksana, kloroform, dan etil asetat sebagai fase gerak, lalu dideteksi dengan lampu UV dan penyemprotan dengan larutan CeSO₄, kemudian dipanaskan di atas hot-plate.

Sebanyak ± 9 g ekstrak kloroform difraksinasi secara KKCV menggunakan eluen n-heksana, etil asetat, dan kloroform sebagai fasa gerak. Fraksinasi dilakukan dengan mengkombinasikan eluen tersebut yang ditingkatkan kepolarannya berdasarkan kenaikan konstanta dielektrikum. Hasil fraksinasi sebanyak 98 fraksi dianalisis secara KLT, fraksi-fraksi yang memiliki pola noda dan kromatogram yang sama (mirip) digabung hingga diperoleh 18 fraksi gabungan. Fraksi-fraksi diuapkan pada suhu ruang hingga diperoleh padatan.

Fraksi gabungan F dilanjutkan ke tahap selanjutnya yaitu analisis secara KKF. Sebanyak 238,7 mg fraksi F difraksinasi menggunakan eluen n-heksana : etil asetat sebagai fasa gerak. Hasil fraksinasi diperoleh sebanyak 65 fraksi lalu diuji KLT. Fraksi-fraksi yang memiliki pola noda dan kromatogram yang sama digabung hingga diperoleh 2 fraksi gabungan, selanjutnya diuapkan hingga diperoleh padatan.

3. Pemurnian dan identifikasi

Fraksi F₂ sebanyak 80,4 mg direkristalisasi dengan eluen n-heksana : etil asetat (8:2), diperoleh isolat berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih sebanyak 15,24 mg. Kemurnian isolat ditentukan dengan melakukan uji KLT tiga macam sistem eluen dan uji titik leleh. Isolat dapat dikatakan telah murni jika muncul noda tunggal pada plat KLT.

Isolat diuji menggunakan pereaksi FeCl₃, Liebermann-Burchard, Mayer, dan Wagner untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder isolat. Identifikasi lebih lanjut menggunakan spektroskopi IR dan NMR.

4. Uji Bioaktivitas

Kertas cakram dimasukkan ke dalam sampel (isolat, kontrol positif, dan kontrol negatif) yang akan antibakterinya, kemudian diletakkan di atas permukaan cawan petri berisi NA yang masing-masing telah diinokulasi bakteri *S. aureus* / *E. coli* sebanyak 1 mL. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya diamati zona hambat yang terbentuk. Zona hambat dapat diamati dengan tidak terdapatnya pertumbuhan bakteri (zona bening) di sekitar kertas cakram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Ekstraksi

Daun *L. camara* Linn dibersihkan dan dikeringkan untuk menghilangkan kandungan air pada sampel. Pengeringan sampel dilakukan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan tanpa terkena sinar matahari langsung untuk mencegah terjadinya kerusakan terhadap struktur senyawa yang terdapat pada sampel. Sampel yang telah kering dihaluskan untuk memperluas bidang permukaan sampel sehingga memudah-

kan dalam melarutkan dan mengekstrak senyawa metabolit pada proses ekstraksi. Selanjutnya dimaserasi dengan metanol. Pelarut polar seperti metanol bersifat universal karena dapat mengekstrak senyawa yang bersifat polar dan non-polar. Maserasi dilakukan selama 2x24 jam, diperoleh maserat sebanyak ±8,8 liter. Maserat disaring dengan penyaring Buchner, lalu dipekatkan dengan *evaporator* untuk memisahkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak ± 493 mL.

Ekstrak kental metanol dipartisi menggunakan pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1, volume 100 mL. Senyawa yang kepolarannya lebih tinggi tetap tinggal pada pelarut metanol, sebaliknya senyawa dengan tingkat kepolaran yang lebih rendah akan terdistribusi ke dalam pelarut kloroform.

Ekstrak kloroform dianalisis untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder menggunakan pereaksi FeCl₃ (uji fenolik), Liebermann-Burchard (uji steroid dan terpenoid), Mayer (uji alkaloid), dan Wagner (uji alkaloid). Hasil uji golongan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Golongan Ekstrak Kloroform

Pereaksi	Pengamatan	Keterangan
FeCl ₃	hijau → hitam, endapan hijau	(+) Flavonoid
Liebermann-Burchard	hijau → hijau bening	(+) Steroid
Mayer	hijau → bening, endapan hijau	(-) Alkaloid
Wagner	hijau → coklat, endapan coklat	(+) Alkaloid

2. Fraksinasi

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa menurut tingkat kepolarannya. Ekstrak kloroform terlebih dahulu diidentifikasi secara KLT

menggunakan kombinasi eluenn-heksana : etil asetat dan n-heksana : kloroform pada berbagai perbandingan sebagai fase gerak. Hasil KLT yang diperoleh pada kombinasi eluenn-heksana : etil asetat (7:3) menunjukkan pola pemisahan noda yang baik dengan penampakan noda CeSO_4 .

Sebanyak ± 9 g ekstrak kloroform difraksinasi secara KKCVC, dimulai dengan eluen n-heksana 100% hingga etil asetat 100%. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuji secara KLT dengan kombinasi eluen n-heksana : etil asetat. Fraksi yang menunjukkan pola kromatogram yang sama (mirip) digabung ke dalam satu fraksi gabungan.

Fraksi F difraksinasi lebih lanjut dengan KKF. Terlebih dahulu fraksi diidentifikasi dengan KLT menggunakan eluenn-heksana : etil asetat untuk mengetahui komponen senyawa dalam fraksi. Hasil KLT diperoleh pada eluen n-heksana : etil asetat (8:2) menunjukkan pola pemisahan noda yang baik.

Fraksinasi menggunakan eluen n-heksana 100% hingga n-heksana : etil asetat (5:5) dan diperoleh sebanyak 65 fraksi. Fraksi yang berbentuk kristal diuji KLT, fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama dikelompokkan hingga diperoleh 2 fraksi gabungan (F1 dan F2).

3. Pemurnian

Fraksi F_2 sebanyak 80,4 mg direkristalisasi dengan eluen n-heksana : etil asetat (8:2) menghasilkan isolat berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih sebanyak 15,24 mg. Rekristalisasi dilakukan secara berulang-ulang hingga diperoleh kromatogram dengan satu noda tunggal pada plat KLT.

Uji kemurnian dilakukan dengan analisis KLT tiga macam eluen yang bertujuan untuk mengetahui kemurnian isolat yang ditunjukkan dengan

munculnya noda tunggal pada plat KLT. Uji titik leleh menunjukkan bahwa isolat mulai meleleh pada suhu 212°C dan meleleh secara keseluruhan pada suhu 213°C . Hal ini menunjukkan isolat telah relatif murni.

B. Pembahasan

1. Identifikasi

a. Uji golongan

Uji golongan dengan pereaksi FeCl_3 menunjukkan hasil positif flavonoid dengan perubahan dari bening menjadi hijau kekuningan.

b. Uji spektroskopi IR

Spektrum IR isolat memberikan serapan pada daerah $3300,20\text{ cm}^{-1}$ yang ditandai dengan pita lebar dengan intensitas dan spesifik untuk gugus fungsi hidroksil bebas (OH). Serapan tajam pada daerah $2978,09$, $2949,16$, $2926,01$, dan $2866,22\text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas kuat diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-H pada CH_3 dan CH_2 . Hal ini menunjukkan bahwa isolat mengandung gugus metil dan metilen alifatik. Keberadaan gugus metil dan metilen diperkuat oleh adanya vibrasi tekuk pada daerah $1645,90$ dan $1381,03\text{ cm}^{-1}$. Selanjutnya pita serapan pada $1708,93$ dan $1695,43\text{ cm}^{-1}$ diidentifikasi sebagai vibrasi ulur dari gugus karbonil C=O, yang didukung oleh serapan C-O pada daerah $1230,58\text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas sedang merupakan tekukan C-O fenol. Pita serapan tajam dengan intensitas sedang pada $1649,14\text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi ulur dari C=C aromatik. Pita serapan tajam pada daerah $1138,00\text{ cm}^{-1}$ merupakan gugus fungsi C-O, sedangkan $1072,42\text{ cm}^{-1}$ merupakan tekukan untuk gugus aril eter (Ar-O-C), pita serapan tajam pada daerah $821,68$ dan $725,23$ merupakan gugus fungsi C-H aromatik.

Data posisi serapan, bentuk pita, intensitas dan karakteristik serapan dari

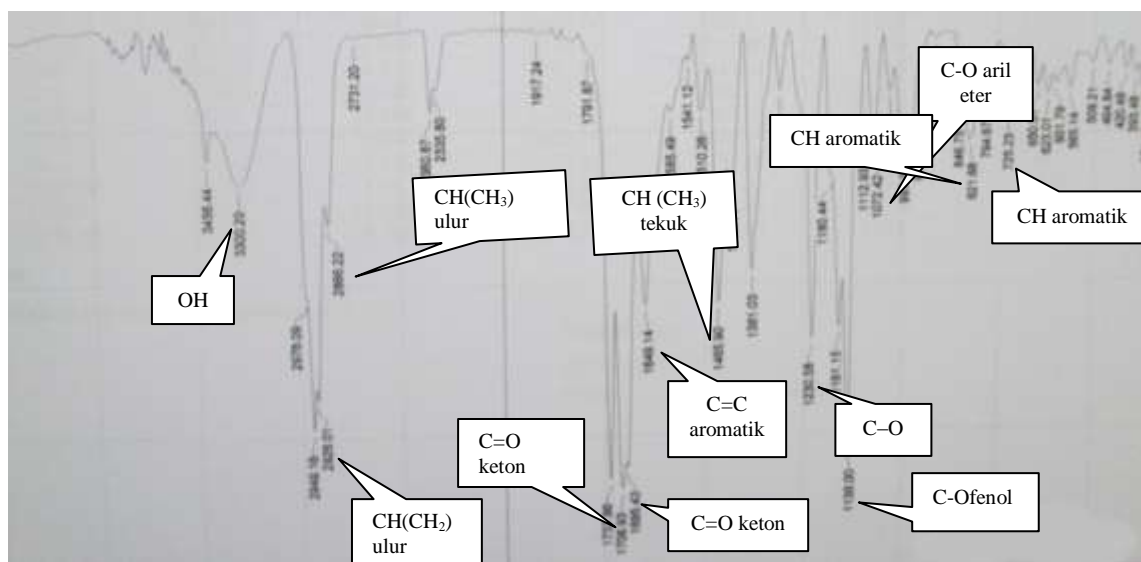
spektrum infra merah isolat dipaparkan dalam Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Interpretasi Spektrum Infra Merah Isolat F1

Posisi serapan (ν , cm^{-1})	Bentuk pita	Karakteristik serapan	Intensitas
3300,20	Melebar	-OH (lit. $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$)	Sedang
2926,01;2866,22	Tajam	-CH pada CH_2 dan CH_3 ulur (lit. $2960 - 2850 \text{ cm}^{-1}$)*	Kuat
1708,93;1695,43	Tajam	C=O keton (lit. $1715 - 1680 \text{ cm}^{-1}$)*	Kuat
1649,14	Tajam	C=C aromatik (lit. $1680 - 1620 \text{ cm}^{-1}$)*	Sedang
1465,90;1433,11	Tajam	-CH pada CH_3 dan CH_2 tekuk (lit. $1470 - 1430 \text{ cm}^{-1}$)*	Sedang
1230,58	Tajam	C-O (lit. $\sim 1230 \text{ cm}^{-1}$)**	Sedang
1138,00	Tajam	C-Ofenol (lit. $1300 - 1000 \text{ cm}^{-1}$)**	Sedang
1072,42	Tajam	C-O aril eter (lit. $1020 - 1075 \text{ cm}^{-1}$)**	Lemah
821,68;725,23	Tajam	CH aromatic	Lemah

Sumber : *) Williams & Fleming, 1973

**) Muharram & Herawati, 2013



Gambar 1. Spektrum Infra Merah Isolat F1

c. Uji spektroskopi $^1\text{H-NMR}$

Analisis dengan spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ bertujuan untuk mengetahui jumlah dan posisi proton dengan menggunakan pelarut CDCl_3 (deuterokloroform) dan standar TMS (tetrametilsilena). tipe yang berbeda dalam molekul.

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ pada geseran kimia δH 3,894-13,086 ppm. merupakan karakteristik untuk geseran kimia proton benzenadan alkohol. Pergeseran kimia dipengaruhi oleh elektronegativitas atom terdekat. Atom yang memiliki keelektronegatifan tinggi seperti oksigen

dan nitrogen atau halogen dapat menurunkan densitas elektron dan menggeser signal ke daerah *downfield*.

Signal pada δ H 3,894, 4,042, 6,577, 6,591, 7,012, 7,029, 7,833, 7,851 (H pada C-H aromatik) dan 13,086 (H pada

OH) Studi literatur yang dilakukan dengan membandingkan spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat dengan spektrum $^1\text{H-NMR}$ golongan senyawa flavonoid turunan flavon. spektrum $^1\text{H-NMR}$ dipaparkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Data $^1\text{H-NMR}$ Isolat F2

No.	F2, pelarut CDCl_3 Geseran kimia, δH (ppm)	Geseran kimia, δH (ppm)	Posisi Atom H
	13,086	1H, singlet	H pada atom C- 5
	7,851 & 7,833	2H, duplet	H pada atom C-2' & C-6'
	7,029 & 7,012	2H, duplet	H pada atom C-3' & C-5'
	6,591	1H, singlet	H pada atom C-8
	6,577	1H, singlet	H pada atom C-3
	4,042	3H, singlet	H pada atom C-6
	3,894	3H, singlet	H pada atom C-4'

d. Uji Antibakteri

Uji antibakteri bertujuan untuk mengetahui keefektifan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian daya hambat pertumbuhan bakteri menggunakan metode difusi dengan menggunakan kertas saring berdiameter 8 mm. Pengujian dilakukan menggunakan isolat, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kontrol positif (kloramfenikol) digunakan sebagai acuan pada penentuan keaktifan ekstrak sebagai antibakteri, sedangkan kontrol negatif (kloroform) digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap aktivitas isolat pada bakteri uji.

Terlebih dahulu kertas cakram dijenuhkan dalam sampel, lalu diletakkan di atas media yang telah diinokulasi bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C , selanjutnya diamati dan diukur luas zona bening yang terbentuk. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Luas Zona Hambat Isolat F2 terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Perlakuan	Rata-rata luas zona hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Kontrol positif	14,75	24,60
Kontrol negatif	0,00	0,00
Isolat	8,97	10,60

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa isolat bersifat bioaktif terhadap bakteri uji yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Semakin luas diameter zona hambat yang dihasilkan, maka semakin besar potensi antibakteri suatu sampel. Jika tidak terbentuk zona hambat dimungkinkan karena sampel tidak dapat melewati dinding sel bakteri sehingga tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri tersebut.

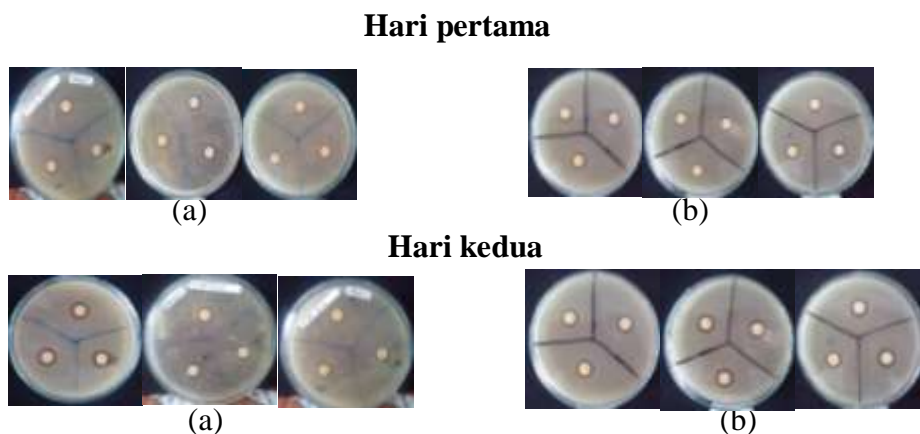
Isolat merupakan golongan senyawa flavonoid. Senyawa ini diketahui berpotensi sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein. Senyawa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan

lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA. Hal ini memungkinkan senyawa ini mudah dalam menembus dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Sabir, 2005). Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kemampuan isolat dalam menghambat bakteri uji lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti konsentrasi sampel, komposisi bahan aktif sampel, dan aktivitas mikroorganisme terhadap sampel. Davis & Stout (1971) mengemukakan bahwa ketentuan antibakteri adalah sebagai berikut: ≥ 20 mm (sangat kuat), 10-20 mm (kuat), 5-10 mm (sedang), dan ≤ 5 mm (lemah). Dengan memperhatikan luas zona bening yang terbentuk, aktivitas isolat terhadap bakteri *S. aureus* sangat kecil (lemah) sedangkan terhadap bakteri *E. coli* memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri tersebut (dapat menghambat atau mengganggu metabolisme bakteri) dengan kategori sedang. Hasil yang sama juga diperoleh

Ganjewala *et al.* (2009) dimana ekstrak daun dan bunga *L. camara* Linn memperlihatkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *E. coli*, *B. subtilis*, dan *P. aeruginosa* namun rendah pada *S. aureus*.

Menurut Winarno *et al.* (2012), bakteri *S. aureus* (Gram positif) memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana, yaitu berlapis tunggal dengan kandungan lipid yang rendah (1-4%). Struktur dinding sel *E. coli* (Gram negatif) lebih kompleks dimana terdiri atas tiga lapisan, diantaranya lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan dengan kandungan lipid yang tinggi yaitu 11-12%. Oleh sebab itu, daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* seharusnya lebih besar karena sampel dapat menembus dinding sel dengan mudah. Hal ini terjadinya kemungkinan bahwa terdapat mekanisme penghambatan lain selain dari kerusakan membran sel yang disebabkan oleh senyawa antibakteri. Rusaknya dinding sel menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri, dan pada akhirnya bakteri akan mati.



Gambar 2. Uji Antibakteri Isolat F2 terhadap Bakteri (a) *S. aureus* dan (b) *E. coli*.

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh senyawa hasil isolasi dari ekstrak kloroform daun *L. camara* Linn yang diidentifikasi sebagai golongan senyawa flavonoid turunan flavon. Hal ini didukung oleh beberapa data diantaranya: uji golongan, uji spektroskopi IR, dan spektroskopi ¹H NMR. Senyawa tersebut bersifat bioaktif terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan luas zona hambat berturut-turut yaitu 8,97 mm dan 10,60 mm.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka peneliti menyarankan:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif dalam tumbuhan obat tersebut untuk dijadikan sebagai bahan baku dalam pembuatan obat baru.
2. Diharapkan untuk memperbanyak sampel yang akan diteliti agar dapat memperoleh hasil dalam jumlah besar sehingga dapat melengkapi data penelitian maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Amusan, O.O.G., N.A. Sukati, P.S. Dlamini, & F.G. Sibandze. 2007. *Some Swazi Phytomedicines and Their Constituents*. Afr. J. of Biotechnol. Vol 6(3): 267-272.
- Asterina, R. 1994. *Pemeriksaan Flavonoid dan Verbaskosid Daun Lantana camara L. Verbenaceae*. Bandung : FMIPA ITB
- Barre, J.T., Bowden, B.F., Coll, J.C., Jesus, J.D., De La Fuente, V., Janairo,, G.C., Ragasa, C.Y., 1997. *A bioactive triterpene from Lantana camara: Phytochemistry*. 45 45,; 321-324.
- Bulan, R. 2003. *Skirining Toksisitas Beberapa Fraksi Metanol dari Daun Lantana camara L.* Jurnal Sains Kimia Vol. 7, No. 2, 2003: 51-54.
- Bulan, R., S. Soedigdo, S. Achmad, & Buchari. 2008. *Lantaden X_R Glikosida, Suatu Komponen Daun Lantana camara L., yang Sitotoksik terhadap Lini Sel LI210*. J. Matematika dan Sains, Vol. 9 No. 1: 209-213.
- Dalimartha, S. 2007. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*; PDPERSI.co.id.Pusat Data Perhimpunan Rumah Sakit Seluruh Indonesia.
- Dharma.A. 2001. *Uji Bioaktifitas Metabolit Sekunder*. Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Untuk Pemanfaatan Sumber Daya Alam Hayati dan Rekayasa Bioteknologi. FMIPA Universitas Andalas Padang
- Davis, W.W. & T.R. Stout. 1971. *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay*. Applied Microbiology, Vol. 22, No. 4, p. 659-665.
- Deshmukhe, P.V., A.A. Hooli, & S.N.Holihosur. 2011. *Effect of Lantanacamara(L.) on growth, Development and Survival of Tobacco caterpillar (Spodopteralitura fabricius)*. Karnataka J. Agric. Sci. 24(2): 137-139.
- Dini, I., Muharram, & Faika, S. 2010. *Penelusuran Senyawa Metabolit Sekunder Antibakterial Tumbuhan Lantana camara Linn untuk*

- Penanggulangan Penyakit Infeksi pada Luka*. Makassar: UNM.
- Ganjewala, D., S. Sam, & K.H. Khan. 2009. *Biochemical Composition and Antibacterial Activities of Lantana camara Plants with Yellow, Lavender, Red, and White Flowers*. Eurasia. J. Bio. Sci. 3: 69-77.
- Hara, B. 2013. *Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat Tradisional oleh Masyarakat Suku Maybrat di Kampung Sire Distrik Mare Selatan Kabupaten Maybrat*. Skripsi. Manokwari: Prodi Kehutanan Universitas Negeri Papua.
- Hendriwal & Khaidir. 2012. *Toksistas ekstrak daun Lantana camara L. terhadap hama Plutella xylostella*. Jurnal Floratek 7(1): 45-56.
- Herawati, N., dan Muharram. 2013. *Materi Perkuliahan Power Point Data Spektrum*. Makassar: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Makassar.
- Hidayati, N.A., Listyawati, S., & Setyawan, A.D. 2008. *Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Lantana camara L. pada Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Jantan*. Bioteknologi 5(1): 10-17.
- Juang, F-C, Chen Y-F, Lin F-M, Huang K-F, 2005. *Constituents from The Leaves of Lantana camara (IV)*. J Chin Med 16: 149-155.
- Mani, L.M., S.C. Dilip. C., A.K. Azeem, D. Raj, L. Mathew, A.B.M. Mambra, L.A. George, Jayaprakash A.P., H. Alex, Sreethu. K.S., D.S. Thampi. 2010. *Antimicrobial Studies on Extracts of Lantana camara Linn*. Dher Pharmacia Lettre, 2010, 2(5): 80-82.
- Narko, T. 1996. *Studi Perbandingan Efek Anti Bakteri dari Minyak Atsiri Daun Lantana camara Linn dan Daun Piper betle Linn*. FF UNAIR.
- Nurochman, P.S. 1996. *Uji Antibakteri dan Penelusuran Senyawa Aktif Tumbuhan Saliara (Lantana camara Linn)*. JF FMIPA UNPAD.
- Sabir, A. 2005. *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigon asp terhadap bakteri Streptococcus mutans (in vitro)*. Majalah Kedokteran Gigi tahun 2005.
- Winarno, S., W.F. Ma'ruf, & E.N. Dewi. 2012. *Uji Bioaktivitas Ekstrak Gelidium sp. terhadap Bakteri Eschericia coli dan Staphylococcus aureus*. Jurnal Perikanan, Vol. 1, No. 2.
- Williams, D.H. & Fleming, I. 1973. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry Second Edition*. McGraw-Hill Book Company (UK), Great Britain.