

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI DARI DERIVAT METIL EKSTRAK ETANOL DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir*)IRMA KRESNAWATY¹⁾ dan ACHMAD ZAINUDDIN²⁾¹⁾ **Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia****Jl. Taman Kencana No. 1 Bogor 16151, E-mail : irma.kresnawati@ibriec.org**²⁾ **Jurusan Kimia, Universitas Padjadjaran Jl. Bandung-Sumedang Km 21 Jatinangor-Sumedang**

(Terima tgl. 21 - 10 - 2008 – Terbit tgl. 2 - 11 - 2009)

ABSTRAK

Banyak tanaman yang dilaporkan memiliki kandungan senyawa bahan aktif antioksidan dan antibakteri. Salah satu tanaman Indonesia yang memiliki aktivitas ini adalah gambir (*Uncaria gambir*). Pada penelitian ini, ekstrak etanol daun gambir diubah menjadi derivat metilnya untuk membuatnya lebih larut dalam lemak dan diamati pengaruh derivatisasi tersebut terhadap aktivitas antioksidan di laboratorium kimia organik dan pengujian aktivitas antibakteri di laboratorium mikrobiologi Universitas Padjadjaran. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia dan laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Padjadjaran dari bulan Desember 2004 - Juli 2005. Ekstrak gambir dimetilasi menggunakan dimetil sulfat (DMS) dan dimurnikan menggunakan kromatografi kolom dengan pelarut bergradien (kloroform : metanol = 99:1 ; 98:2 ; 95:5 ; 80:20 ; 70:30; dan 50:50 v/v) dan kemudian menggunakan kloroform : metanol = 99 : 1 v/v. Aktivitas antioksidan menunjukkan penurunan yang tampak dari peningkatan, yaitu : IC₅₀ 13,41 ppm untuk ekstrak etanol menjadi 121,81 ppm untuk hasil metilasi. Aktivitas antibakteri juga menunjukkan penurunan setelah dimetilasi karena adanya penurunan diameter hambat pertumbuhan bakteri. Dua isolat (isolat 1 dan 2) yang diperoleh dari hasil pemurnian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Visible dan FT-IR. Hasil yang diperoleh mengindikasikan adanya senyawa fenolik yang ditunjukkan oleh regang –OH pada 3445 dan 3448 cm⁻¹ dan regang CH aromatik pada 3010 dan 3030 cm⁻¹. Isolat 1 memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan isolat 2.

Kata kunci : *Uncaria gambir*, derivat metil, antibakteri dan aktivitas antioksidan

ABSTRACT***The antioxidant and antibacterial activities of ethanol extract of gambir leaves (Uncaria gambir)***

There are many plants in Indonesia reported to contain antioxidant and antibacterial substances. One of them having these activities is gambir (*Uncaria gambir*). In this research, ethanol extract of gambir leaves was changed into its methyl derivate in order to make it more soluble in fats. The effect of the derivatization on antioxidant activity was observed at organic chemistry laboratory and antibacterial activity was observed at microbiology laboratory of the Padjadjaran University. This research was carried out in December 2004 to July 2005. Gambir extract was methylized using dimethylsulphate (DMS) and then purified using column chromatography with gradient solvents (chloroform : methanol = 99:1 ; 98:2 ; 50:50 ; 80:20 ; 70:30; and 50:50 v/v), and then with chloroform : methanol = 99:1 v/v. The antioxidant activity showed a decrease indicated by an increase of IC₅₀ from 13.41 ppm for ethanolic extract to become 121.81 ppm for the methylated compounds. The antibacterial activity also showed a decrease after methylization due to the decrease of inhibition diameter of bacteria growth. Two isolates (isolate 1 and 2) obtained from

the purification steps were characterized using UV-Visible spectrophotometer and FT-IR. The results indicated the existence of phenolic compounds showed by -OH stretching in 3,445 and 3,448 cm⁻¹; and CH aromatic stretching in 3,010 and 3,030 cm⁻¹. Isolate 1 was higher in antioxidant and antibacterial activities than isolate 2.

Key words : *Uncaria gambir*, methyl derivative, antibacterial, antioxidant activities

PENDAHULUAN

Beberapa tahun belakangan ini telah banyak dilakukan penelitian untuk menemukan antioksidan dan antibakteri alami yang bersumber dari tanaman (ANDLAUER dan FRUST, 1998), khususnya tanaman-tanaman asli Indonesia. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada sejumlah ekstrak tanaman yang biasa digunakan sebagai bumbu dan obat tradisional, beberapa diantaranya berpotensi sebagai sumber antioksidan. Salah satu tanaman tradisional yang diteliti adalah gambir (*Uncaria gambir*) yang memang sejak lama digunakan masyarakat tradisional sebagai antiseptik dan obat sakit perut, serta sebagai salah satu ramuan makan sirih (SARWEDI, 2001) yang merupakan indikasi kandungan antioksidan dan antibakteri dalam tanaman tersebut. Sampai saat ini belum banyak penelitian yang mengupas tentang aktivitas antioksidan dan antibakteri yang dimiliki oleh daun gambir.

Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh senyawa metabolit sekunder tanaman sangat penting karena dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang dapat melindungi dari penyakit kardiovaskuler, oksidasi lipoprotein densitas rendah (LDL) dan beberapa penyakit kanker lainnya (AKAGAWA dan SUYAMA, 2001). Selain itu juga diketahui memiliki peran dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme, serangga dan herbivora. Aktivitas ini dimiliki karena kemampuannya membentuk kompleks dengan protein yang larut dan protein ekstraseluler, dan dapat membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri (COWAN, 1999), sehingga dapat berfungsi sebagai antibakteri. Aktivitas antioksidan dan

antibakteri ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan makanan yang akan menjaga makanan dari ketengikan dan kontaminasi bakteri.

Tetapi kendala dari penggunaan senyawa alami dari tanaman adalah kelarutannya yang rendah dalam lemak. Penambahan gugus alkil diketahui dapat meningkatkan kelarutan antioksidan dalam lemak, sehingga akan memungkinkan penggunaannya sebagai bahan tambahan makanan (YANISHLIEVA-MASLAROVA, 2001). Dari penelitian HERMAWAN (2004) diketahui bahwa derivatisasi gugus asetil dapat menurunkan aktivitas antioksidan, sehingga pada penelitian ini dilakukan penambahan gugus yang lebih kecil, yaitu gugus metil (CH_3). Penambahan gugus metil memberikan efek yang berbeda-beda terhadap aktivitas antibakteri pada beberapa senyawa. Pemasukan gugus alkil ke dalam gugus fenol umumnya akan meningkatkan aktivitas antibakteri (SISWANDONO dan SOEKARDJO, 1995), sementara itu pada senyawa terpen penambahan gugus metil akan menurunkan aktivitas antibakteri (MENDOZA *et al.*, 1997). Sehingga pada penelitian ini akan diamati pengaruh pengubahan gugus metil terhadap aktivitas antioksidan dan antibakteri, dan dilakukan isolasi senyawa hasil metilasi untuk dianalisis strukturnya dengan spektrofotometer UV-Visible dan FT-IR, serta diuji aktivitas antioksidan dan antibakteri isolat-isolat tersebut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia dan laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Padjadjaran dari bulan Desember 2004-Juli 2005.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gambir (*Uncaria gambir*) yang berasal dari Sumatera Barat. Bahan kimia yang digunakan antara lain : agar, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), dimetil sulfat (DMS), etanol, etil asetat, kloroform, metanol, natrium klorida fisiologis, natrium hidroksida (NaOH), *nutrient broth*. Bakteri uji menggunakan bakteri *Escherichia coli* sp. dan *Staphylococcus aureus* sp. koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Padjadjaran.

Daun gambir kering yang sudah dihaluskan diekstraksi menggunakan metode soklet dan dimetilasi menggunakan dimetil sulfat (DMS) dan dilakukan isolasi, pengujian aktivitas dan karakterisasi isolat (Gambar 1).

Metilasi Ekstrak Etanol Daun Gambir Menggunakan Dimetil Sulfat (DMS)

Sebanyak 12 g ekstrak etanol ditambahkan ke dalam larutan NaOH (5,2 g dalam 50 ml) dalam labu dasar bulat

(250 ml) yang dilengkapi dengan kondensor reflus dan corong tetes pada bagian atas kondensor, serta memiliki bagian potongan V yang dangkal. Campuran didinginkan selama 10 menit dan dimasukkan 12 ml DMS melalui corong tetes selama 15 menit. Larutan dikocok setiap kali penambahan, kemudian dipanaskan dengan reflus selama 15 menit. Setelah itu didinginkan dan dicuci dengan akuades sampai pH netral. Padatan hasil metilasi dikeringkan dalam desikator. Padatan ini dilarutkan dalam etil asetat dan diambil fraksi yang larut dalam etil asetat (SMITH dan WALDRON, 1980).

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode Penangkapan Radikal Menggunakan 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH)

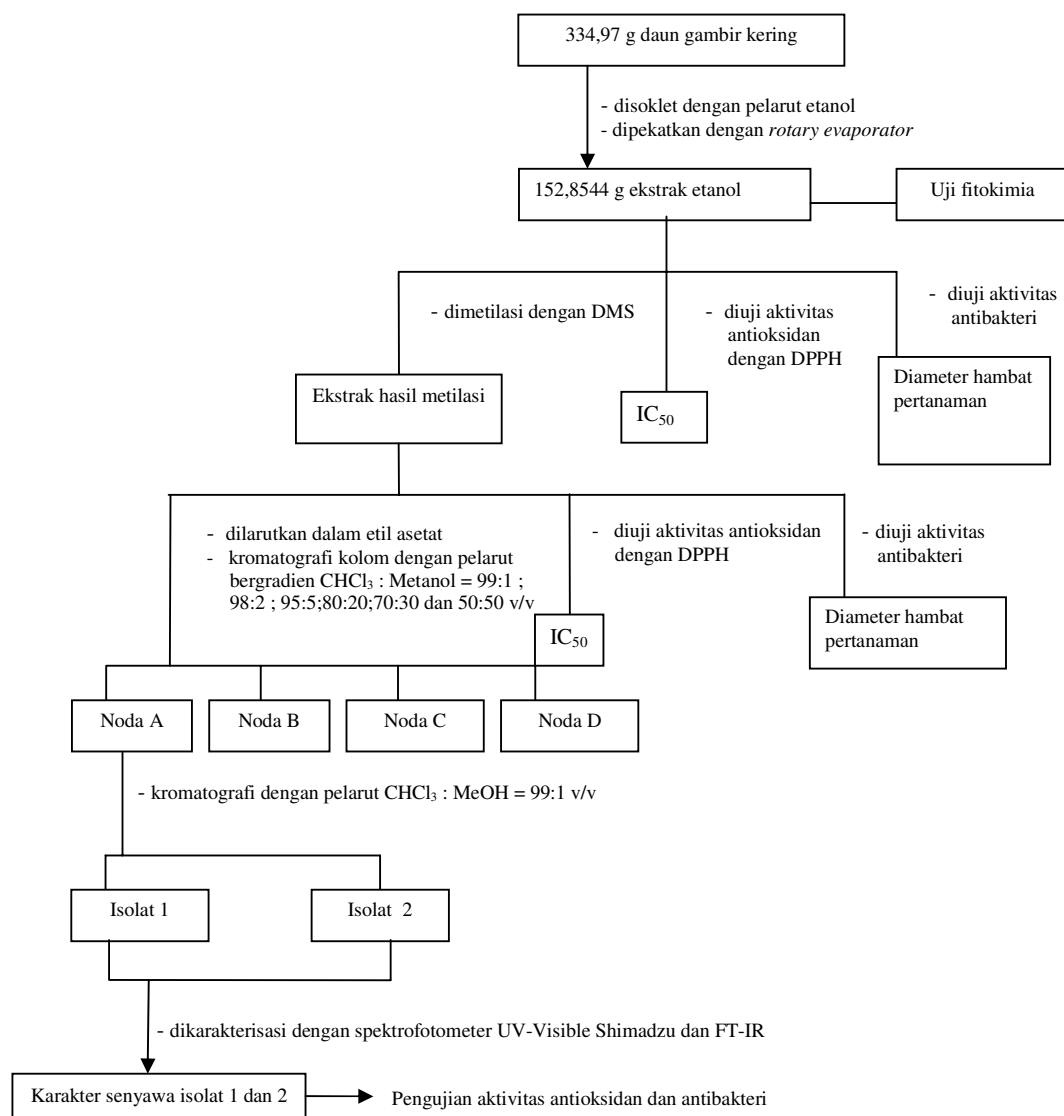
Sebanyak 1 ml larutan DPPH 0,0010 M ditambahkan 4 ml larutan ekstrak (untuk kontrol ekstrak digantikan metanol). Larutan dikocok sampai homogen dan dibiarkan selama 30 menit. Kemudian absorbansinya diukur terhadap metanol pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Visible (BRAND-WILLIAM *et al.*, 1995). Nilai persentase inhibisi yang diwakili oleh nilai IC_{50} dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persen inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi}_{\text{DPPH}} - \text{Absorbansi}_{\text{ekstrak}}}{\text{Absorbansi}_{\text{DPPH}}} \times 100 \% \dots\dots 1)$$

Dari nilai persen inhibisi sebagai absis (x) dan konsentrasi ekstrak sebagai ordinat (y) maka dengan metode LR (*linear regression*) diperoleh persamaan garis dan ditentukan konsentrasi saat persen inhibisi 50% (IC_{50}).

Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Penentuan Diameter Hambat

Sebanyak 19 ml agar steril yang tersuspensi bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi silinder sumuran yang kemudian diisi dengan ekstrak dengan konsentrasi 200, 400, 600, dan 800 ppm. Lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C . Setelah lewat masa inkubasi diameter hambat yang terbentuk berupa daerah bening diukur sebagai parameter untuk menentukan besarnya aktivitas antibakteri (KURNIASIH, 2000). Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan derivat metilnya dengan bakteri uji *Escherichia coli* sp. dan *Staphylococcus aureus* sp. Data pengujian aktivitas antibakteri menggunakan desain acak sempurna dengan analisis ANOVA dua arah dan pengujian korelasi Pearson menggunakan MiniTab 13.



Gambar 1. Bagan alir penelitian
Figure 1. Research flow chart

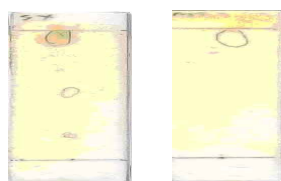
HASIL DAN PEMBAHASAN

Metilasi dengan Menggunakan Dimetil Sulfat (DMS)

Gambir diperoleh dari daerah Sumatera Barat yang merupakan sentra produksi gambir. Daun gambir kering diekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan metode soklet dan dimetilasi menggunakan dimetil sulfat (DMS). Hasil metilasi terdiri dari dua fase, yaitu : padatan dan cairan. Fase cairan diduga terdiri dari etanol yang digunakan sebagai pelarut dan sisa NaOH ataupun DMS yang tidak bereaksi, sedangkan padatan berisi hasil

metilasi, yaitu derivat metil ekstrak etanol daun gambir. Senyawa ini mengendap karena perbedaan kelarutan setelah termetilasi. Senyawa ini menjadi gugus eter yang lebih nonpolar dibanding gugus alkohol sebelumnya. Ekstrak etanol dan hasil metilasinya dibandingkan kandungannya menggunakan kromatografi lapis tipis (Gambar 2).

Dari hasil pemisahan tersebut terlihat bahwa noda hasil metilasi bersifat lebih nonpolar karena adanya tambahan 1 atom karbon dibanding ekstrak etanol awal (Gambar 2). Adanya perbedaan kepolaran dan wujud fisik dari keduanya, mengasumsikan bahwa telah terjadi metilasi pada ekstrak etanol daun gambir.

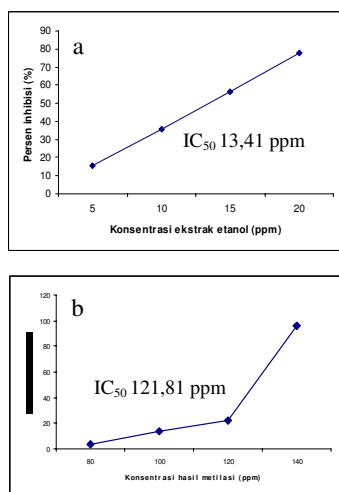


Gambar 2. Noda KLT ekstrak etanol (kiri) dan hasil metilasi (kanan) dengan eluen butanol : air : CH_3COOH = 5:4:1

Figure 2. TLC spots of ethanol extract (left) and methylated result (right) using butanol : water : CH_3COOH = 5:4:1 as eluent

Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH dan Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dan senyawa hasil metilasi dapat dilihat pada Gambar 3. Dari gambar terlihat adanya peningkatan nilai IC_{50} , dari ekstrak kasar yang awalnya hanya 13,41 ppm (a), menjadi 121,81 ppm (b) untuk ekstrak yang telah termetilasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa pengubahan atom -H menjadi gugus metil ($-\text{CH}_3$) melalui reaksi metilasi telah menurunkan aktivitas antioksidan, yang disebabkan pengurangan atom -H yang merupakan sumber proton untuk penangkapan radikal bebas. Aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan penambahan jumlah -OH selama jumlah -OH 2-5, tapi jika jumlah -OH lebih dari 6 maka akan terjadi penurunan aktivitas antioksidan (MIKAMO *et al.*, 2000).



Gambar 3. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol (a) dan hasil metilasi daun gambir (b)

Figure 3. Antioxidant activity of ethanol extract (a) and methylated result (b)

Selain itu, terbentuknya gugus metoksi ($-\text{OCH}_3$) hasil metilasi menyebabkan tidak terbentuknya ikatan hidrogen dengan $-\text{OH}$ di posisi orto, sehingga akan menurunkan aktivitas antioksidan (HALL, 2001). Aktivitas antioksidan ekstrak maupun hasil metilasi lebih rendah dibandingkan dengan senyawa antioksidan yang diisolasi dari daun benalu (DARMAWAN dan ARTANTI, 2006) yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 9,4 ppm. Hal ini dapat disebabkan perbedaan pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan.

Pada penelitian ini aktivitas antibakteri diujikan pada dua jenis bakteri yang mewakili kelompoknya masing-masing yaitu bakteri gram negatif dan gram positif karena perbedaan komposisi membran sel yang menyebabkan kedua bakteri ini memberikan respon yang berbeda terhadap antibakteri tertentu (PELCZAR dan CHAN, 1986).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur diameter hambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa isolat. Dari data uji pendahuluan diperoleh rentang konsentrasi yang menunjukkan penghambatan yang signifikan, yaitu pada rentang 100-1.000 ppm. Sehingga dilakukan pengukuran diameter hambatan pada rentang tersebut yaitu pada konsentrasi 200, 400, 600, dan 800 ppm (Tabel 1). Dari hasil uji antibakteri diketahui ekstrak memiliki aktivitas antibakteri dalam berbagai konsentrasi uji terlihat dari terbentuknya zona bening daerah yang ditumbuhi bakteri.

Berdasarkan hasil analisis diperoleh bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun gambir berpengaruh pada diameter hambatan pertumbuhan bakteri baik *E. coli* dan *S. aureus* (berbeda nyata dengan signifikansi 5% dengan nilai $P = 0,000$). Sedangkan konsentrasi hasil metilasi tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($P = 0,067$) yang berarti tidak ada pengaruh konsentrasi pada diameter hambatan pertumbuhan bakteri. Dan hasil analisis korelasi, antara konsentrasi ekstrak etanol daun gambir dan daya hambatan pertumbuhan, menunjukkan korelasi yang sangat kuat (nilai $r = 0,888$), sehingga jika konsentrasi ditingkatkan akan meningkatkan nilai daya hambatan pertumbuhan bakteri.

Senyawa aktif antibakteri yang terdapat dalam ekstrak etanol daun gambir merupakan senyawa golongan fenolik. Dari pengujian terlihat bahwa ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibanding turunan metilnya. Hal tersebut dikarenakan jumlah -OH pada kelompok fenolik diduga sangat berhubungan dengan toksisitas terhadap mikroorganisme, dengan bukti bahwa peningkatan hidroksilitas menghasilkan peningkatan toksisitas (SISWANDONO dan SOEKARDJO, 1995). Tapi dari data penghambatan pertumbuhan (Tabel 2) diamati bahwa hasil metilasi memberikan aktivitas bakteri yang cukup signifikan bahkan pada konsentrasi kecil (1 ppm). Ekstrak etanol daun gambir baik yang belum ataupun telah termetilasi menunjukkan aktivitas antibakteri yang cukup signifikan terutama pada *E. coli* yang mendukung alasan penggunaan daun gambir sebagai obat diare.

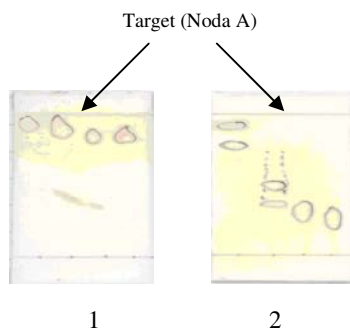
Tabel 1. Nilai diameter hambat ekstrak etanol dan hasil metilasi daun gambir konsentrasi 200, 400, 600, dan 800 ppm dengan bakteri uji *E.coli* dan *S. aureus*

Table 1. Inhibition diameter value of gambir leaves ethanol extract and methylation product in 200, 400, 600, and 800 ppm with *E.coli* and *S.aureus* as experiment bacterias

	Diameter hambat (mm) ekstrak etanol daun gambir <i>Inhibition diameter of gambir leaves ethanol extract</i>									
	Ekstrak etanol <i>Ethanol extract</i>					Hasil metilasi <i>Methylation product</i>				
	Standar	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	Standar	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm
<i>E. coli</i>	9	11	14	20	23	8	12	13	13	14
	9	11	14	22	21	9	12	13	14	14
	9	12	14	20	21	8	12	13	13	17
<i>S. aureus</i>	9	12	14	15	16	8	11	12	13	14
	10	11	13	16	17	8	11	12	12	12
	9	10	12	15	16	9	12	12	13	15
			P = 0,000					P = 0,067		
			r = 0,888							

Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan Hasil Metilasi Ekstrak Etanol Daun Gambir

Proses isolasi dan pemurnian dilakukan menggunakan metode kromatografi padat cair dengan berdasarkan proses perbedaan kelarutan senyawa tersebut pada fase diam dan eluen yang digunakan. Pemisahan senyawa pada kromatografi kolom I berdasarkan warna noda yang dibagi menjadi empat noda utama yaitu noda A, B, C dan D. Dari keempat senyawa tersebut diuji aktivitas antioksidannya. Karena keempatnya memiliki aktivitas antioksidan, maka dipilih noda yang jumlahnya paling banyak untuk memudahkan pengerjaan selanjutnya dan menunjukkan pemisahan yang lebih baik dibanding noda-noda yang lain, yaitu noda A (Gambar 4).



Gambar 4. Noda KLT keempat noda hasil kromatografi kolom menggunakan penyemprom DPPH, dengan eluen (1) CHCl_3 : MeOH = 8:2 dan (2) CHCl_3 : MeOH = 95:5 v/v, keempat noda menunjukkan keaktifan antioksidan dengan DPPH. Noda A memberikan pemisahan yang lebih baik

Figure 4. TLC spots of the four column chromatography spots with DPPH detector and eluent (1) CHCl_3 : MeOH = 8:2 and (2) CHCl_3 : MeOH = 95:5 v/v, the four spots showed the antioxidant activity using DPPH. Spot A gave the better separation

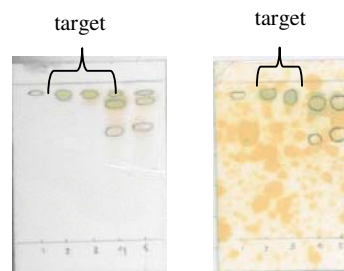
Noda A ini masih mengandung banyak senyawa, sehingga dilakukan kromatografi lapis tipis dengan variasi perbandingan pelarut kloroform dan metanol. Dan diperoleh pemisahan yang lebih baik pada perbandingan CHCl_3 : MeOH = 99 :1 v/v. Dari hasil kolom, masing-masing fraksi diuji melalui kromatografi lapis tipis, dan diperoleh isolat 1 dan 2 mengandung satu senyawa yang berkeaktifan antioksidan (Gambar 5).

Isolat 1 dan 2 ini kemudian dikarakterisasi struktur senyawanya menggunakan spektrofotometer UV dan FT-IR, dan juga dilakukan perbandingan aktivitas antioksidan dan antibakterinya untuk mengetahui bagaimana pengaruh gugus fungsi pada aktivitas-aktivitas tersebut.

Karakterisasi Isolat

Pengujian dengan spektrofotometer UV-Visible

Karakterisasi UV Spektrum UV-Visible (Gambar 6) menunjukkan bahwa isolat I memberikan tiga daerah serapan dengan serapan maksimum pada 400 nm. Pada

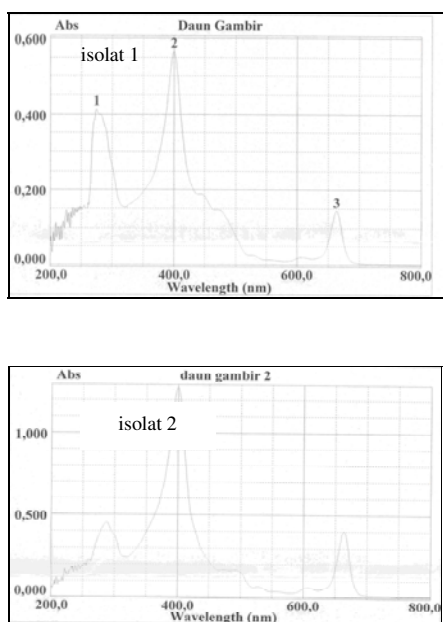


Gambar 5. Noda KLT fraksi hasil kolom kromatografi dengan eluen CHCl_3 : MeOH = 99:1 v/v, dengan pendeteksi H_2SO_4 /etanol (kiri) dan DPPH (kanan)

Figure 5. Spots of TLC fraction as the result of column chromatography with CHCl_3 : MeOH = 99:1 v/v as the solvent, with H_2SO_4 /etanol as detector (left) and DPPH (right)

puncak pertama dengan panjang gelombang 274,4 nm, harga $E^{1\%}$ 99,16 yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (pita B, pita benzenoid pada flavonoid), dan pada puncak dengan absorbansi maksimum diperoleh nilai $E^{1\%}$ sebesar 135,57 yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (pita sinamoil pada flavonoid) menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan pada puncak terakhir diperoleh harga $E^{1\%}$ sebesar 34,49 yang menunjukkan transisi $n \rightarrow \pi^*$ yang diasumsikan menunjukkan adanya gugus karbonil.

Spektrum UV-Visible menunjukkan bahwa isolat 2 juga memberikan tiga daerah serapan dengan serapan maksimum juga pada 400 nm. Pada puncak pertama dengan panjang gelombang 287 nm, harga $E^{1\%}$ 18,45 yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (pita benzenoid pada flavonoid), dan pada puncak dengan absorbansi maksimum diperoleh nilai $E^{1\%}$ sebesar 52,02 yang menunjukkan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (pita K, pita sinamoil pada flavonoid) menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan pada puncak terakhir diperoleh harga $E^{1\%}$ sebesar 16,29 yang menunjukkan transisi $n \rightarrow \pi^*$ menunjukkan adanya gugus karbonil. Intensitas serapan pada 400 nm lebih tinggi dimiliki oleh isolat 1. Hal ini diduga karena senyawa 2 merupakan senyawa yang memiliki lebih banyak gugus -OH, yang memungkinkan konjugasi lebih banyak dibandingkan dengan isolat 2.



Gambar 6. Spektrum UV-Visible isolat 1 dan 2 pada konsentrasi 0,42 g/100 ml dalam etanol
 Figure 6. UV-Visible spectrum of isolate 1 and 2 in 0.42 g /100 ml concentration in ethanol

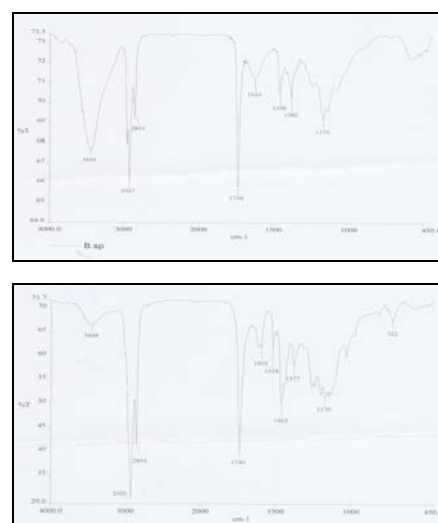
Pengujian dengan FT-IR

Untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa dilakukan analisis menggunakan FT-IR (Gambar 7).

Dari data Gambar 7 terlihat bahwa struktur isolat 1 mengandung beberapa gugus sebagai berikut : gugus -OH (puncak yang lebar dan tajam pada bilangan gelombang 3445 cm^{-1}), cincin aromatik (bilangan gelombang 3010 cm^{-1}), regang -CH- alifatik simetri dan simetri (bilangan gelombang 2927 dan 2855 cm^{-1}), karbonil C=O (bilangan gelombang 1738 cm^{-1}), C=C (bilangan gelombang 1634 cm^{-1}), dan adanya regang C-O (bilangan gelombang 1170 cm^{-1}). Dari hasil interpretasi ini diduga isolat 1 merupakan senyawa golongan polifenol dan didukung oleh uji fitokimianya dimana isolat 1 memberikan warna hijau saat ditambahkan FeCl_3 .

Isolat 2 juga mengandung gugus -OH yang ditandai dengan adanya puncak pada bilangan gelombang 3448 nm dengan intensitas yang lebih kecil, gugus alifatik (bilangan gelombang 2926 - 1854 cm^{-1}), juga mengandung gugus karbonil, regang C=C khususnya pada cincin aromatik dan gugus C-O (1200 - 1100 cm^{-1}) yang lebih banyak.

Dari hasil analisis FT-IR diperoleh bahwa isolat 2 memiliki gugus -OH yang jauh lebih sedikit daripada isolat I dan serapan isolat II pada 1100 - 1200 cm^{-1} yang menandakan gugus C-O lebih banyak pada isolat 2 dibanding isolat 1. Disamping itu intensitas serapan -CH- alifatik pada isolat II jauh lebih tinggi dibanding isolat 1, yang menandakan gugus -CH₃ (hasil metilasi) yang lebih banyak dibanding isolat 1. Hal ini dapat menjadi dasar dugaan bahwa isolat 2 lebih mengalami metilasi daripada isolat 1, dasar ini juga diperoleh dari perbedaan kelarutan yang cukup signifikan antara keduanya.



Gambar 7. Spektrum inframerah isolat 1 (atas) dan 2 (bawah)
 Figure 7. Infrared spectrum of isolate 1 (up) and 2 (down)

Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Isolat 1 dan 2

DAFTAR PUSTAKA

Dari pengujian aktivitas antioksidan (Tabel 2) diperoleh bahwa isolat 1 yang lebih banyak mengandung gugus -OH memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih tinggi dibanding isolat 2, ditandai dengan nilai persen inhibisi isolat 1 sebesar 92,54%, sedangkan untuk isolat 2 hanya sebesar 3,27% pada konsentrasi yang sama. Perbedaan yang signifikan ini mendukung teori bahwa aktivitas antioksidan bergantung pada jumlah gugus -OH.

Isolat 1 dan 2 yang memiliki jumlah -OH yang berbeda diuji aktivitas antibakterinya dan diperoleh data seperti tercantum pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa isolat 1 yang lebih banyak mengandung gugus -OH bersifat lebih toksik terhadap bakteri dibanding isolat 2. Tapi nilai diameter hambat kedua isolat ini jauh lebih kecil dibanding daun gambir dalam bentuk ekstrak dan hasil metilasi yang belum dimurnikan dalam konsentrasi yang sama. Analisis statistik hasil isolasi dari hasil derivat menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara kedua isolat tersebut (P = 0,028).

Tabel 2. Aktivitas antioksidan isolat 1 dan 2 hasil pemisahan kromatografi kolom

Table 2. Antioxidant activity of isolate 1 and 2 as the result of separation of column chromatography

Isolat	Absorbansi pada 571 nm		A rata-rata	Persen inhibisi
	A _I	A _{II}		
Standar (DPPH 0,001 M)	1,133	1,132	1,1325	
Isolat 1 400 ppm	0,085	0,084	0,0845	92,54%
Isolat 2 400 ppm	1,096	1,095	1,0955	3,27%

Tabel 3. Aktivitas antibakteri isolat 1 dan 2 terhadap bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*

Table 3. Antibacterial activity of isolate 1 and 2 with *E. coli* and *S. aureus* as experiment bacterias

Bakteri	Diameter hambat pertanaman bakteri (mm)	
	Inhibition diameter of bacteria plantation	
	Isolat 1 400 ppm	Isolat 2 400 ppm
<i>E. coli</i>	11	9
	11	10
	10	11
<i>S. aureus</i>	10	9
	10	9
	10	9

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun gambir yang termetilasi menunjukkan aktivitas antioksidan dan antibakteri yang lebih kecil dibandingkan sebelum dimetilasi. Melalui kromatografi kolom diperoleh dua isolat dengan perbedaan warna, kelarutan dan aktivitas antioksidan dan antibakterinya. Dari hasil spektrofotometer UV-Visible dan infra-merah diduga senyawa kedua isolat tersebut adalah golongan fenolik. Isolat 1 memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan isolat 2.

AKAGAWA, M. and K. SUYAMA. 2001. Amine oxidase lie activity of flavonoid. Europe Jurnal Biochemryist. 268, 1953-1963.

ANDLAUER, W. and P. FRUST. 1998. Antioxidative power of phytochemical with special references to cereals. Cereals Food World. 4(5): 356-360.

BRAND-WILLIAM, W., M.E. CUVELIER, and C. BERSET. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant ativity. Lebensm-Wiss.u-Technol. 28: 25-30.

COWAN, M.M. 1999. Plants product as antimicrobial agent. Journal of American Society for Microbiology. 12(4): 564-582.

DARMAWAN, A. dan N. ARTANTI. 2006. Isolasi dan identifikasi senyawa aktif antioksidan dari ekstrak air daun benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) yang tumbuh pada cemara (*Casuari* sp.). Widyariset 9(3):43-51.

HALL, C. 2001. Sources of natural antioxidant : oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal product and microbial sources. J. Pokorny, N. Yanishlieva & M. Gordon. Antioxidant in Food. Woodhead Publishing Limited. New York.

HERMAWAN, J. 2004. Keaktifan Antioksidan Derivat Asetil Ekstrak Etanol Daun Gambir pada Sistem Lipid Tembaga (II) Asetat. Skripsi. Universitas Padjadjaran.

KURNIASIH, R. 2000. Uji Antibakteri dan Uji Antijamur. Laporan Kerja Praktek. Universitas Padjadjaran. (Tidak dipublikasikan).

MENDOZA, L., M. WILKENS, and A. URZUA. 1997. Antimicrobial study of the resinous exudates of diterpenoids and flavonoid isolated from some Chilean Pseudognaphalium (Asteraceae). Jurnal Ethnopharmacology. 58: 85-88.

MIKAMO, E., Y. OKADA., A. SEMMA., Y. OTTO, and I. MORIMOTO. 2000. Studies on structural correlation-ship in antioxidant activity (2). Tokyo.

PELCZAR, M.J. and E.C.S. CHAN. 1986. Dasar-dasar mikrobiologi, diterjemahkan oleh : R.S.Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo & S.L. Angka. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.

SARWEDI, E. 2001. Gambir. Teknologi tepat guna agrobisnis kecil Sumatra Barat. [http\ www.kompas/gambir](http://www.kompas/gambir).

SISWANDONO dan B. SOEKARDJO. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press. Surabaya.

SMITH, B.V dan N.M. WALDRON. 1980. Vogel's elementary practical organic chemistry 1 preparations. Third edition. Longman Publisher. New York.

YANISHLIEVA-MASLAROVA, N.V. 2001. Inhibiting Oxidation. J, Pokorny, N. Yanishlieva & M. Gordon. Antioxidant in Food. Woodhead Publishing Limited. New York.

