



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI AKTIF  
ANTIBAKTERI PADA BUAH TANAMAN SENDUDUK (*Melastoma  
mulabathricum* L)**

**SKRIPSI**



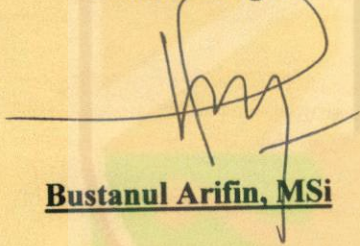
**ALESKA CURSA, SSI  
07132043**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU  
PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS  
ANDALAS PADANG  
2011**

**ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI AKTIF ANTIBAKTERI PADA BUAH TANAMAN SENDUDUK (*Melastoma malabathricum* L.), skripsi sarjana oleh Aleska Gursa (07132043) diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (Strata 1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.**

**Disetujui Oleh :**

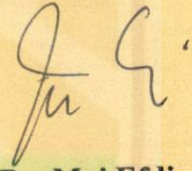
**Pembimbing I**



**Bustanul Arifin, MSi**

**NIP. 196002281990031001**

**Pembimbing II**



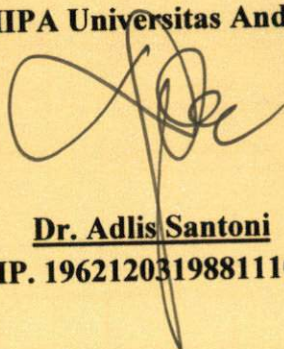
**Dr. Mai Efdi**

**NIP. 197205301999031003**

**Mengetahui :**

**Ketua Jurusan Kimia**

**FMIPA Universitas Andalas**



**Dr. Adlis Santoni**

**NIP. 196212031988111002**

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul **“Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Aktif Antibakteri pada Buah Tanaman Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)”**.

Selanjutnya salawat beserta salam dikirimkan kepada tauladan umat, Nabi Muhammad SAW. Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat guna memperoleh gelar Strata satu pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada :

1. Bustanul Arifin, M.Si. selaku Pembimbing Utama dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Dr. Mai Efdi selaku Pembimbing Pendamping selama pelaksanaan penelitian sekaligus selaku Pembimbing Akademik.
3. Dr. Adlis Santoni selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Andalas Padang.
4. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.
5. Kedua Orangtua Penulis dan keluarga besar di Payakumbuh dan Padang, Sumatera Barat.
6. Rekan-rekan mahasiswa Kimia angkatan 2007.
7. Rekan-rekan mahasiswa penelitian di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Universitas Andalas.

8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis sehingga selesainya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tidak ada gading yang tak retak. Oleh karena itu Penulis tidak lupa mengharapkan kritik dan saran dalam perbaikan dan pengembangan riset ini ke depan. Harapan penulis semoga skripsi dengan segala kekurangan dan kesederhanaan ini bermanfaat bagi rekan-rekan mahasiswa dan masyarakat yang membutuhkan.

Wassalamu`alaikum Wr.Wb.

Padang, Desember 2011

Penulis



## ABSTRAK

Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Aktif Antibakteri pada Buah Tanaman Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Aleska Gursa (07132043)

Dibimbing oleh : Bustanul Arifin, M.Si dan Dr. Mai Efdi

Tanaman Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) merupakan tanaman yang tumbuh di daerah Asia Tenggara yang secara umum dikenal sebagai obat tradisional dalam penyembuhan luka. Penelitian dilakukan untuk mengisolasi senyawa triterpenoid yang aktif antibakteri dari bagian buah tanaman ini. Ekstraksi bagian buah dilakukan dengan metoda maserasi dan pengisolasian dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel dan dielusi secara bertahap menggunakan metoda Step Gradient Polarity (SGP) dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Fraksi aktif antibakteri terdapat pada fraksi metanol yang memberikan hasil isolasi berupa serbuk berwarna putih kekuningan, selanjutnya direkristalisasi dengan n-heksan dan menunjukkan noda tunggal pada KLT ( $R_f = 0,53$ ). Dari pengujian metabolit sekunder, analisis data spektroskopi UV dan IR dapat diketahui bahwa senyawa hasil isolasi merupakan metabolit sekunder golongan triterpenoid yang memiliki substituen  $-OH$ ,  $C=O$ ,  $C=C$ ,  $C-O$ , dan  $-CH$ . Pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi pada konsentrasi 1000 ppm berhasil menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata kunci : Antibakteri, *Melastoma malabathricum* L., triterpenoid, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## ABSTRACT

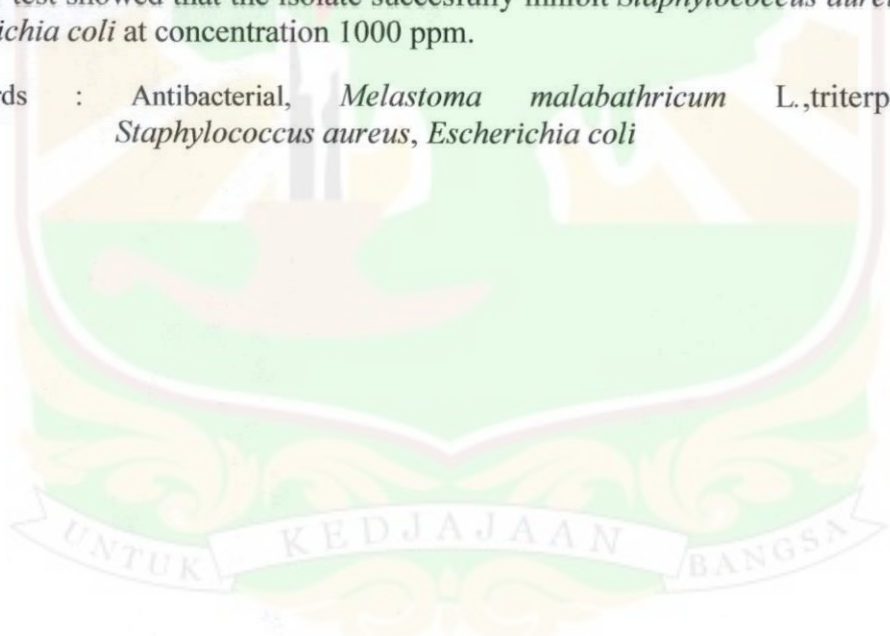
Isolation of Triterpenoid on Antibacterial Active Fraction from Senduduk Fruits  
(*Melastoma malabathricum* L.)

**Aleska Gursa (07132043)**

**Advised by : Bustanul Arifin, M.Si dan Dr. Mai Efdi**

Senduduk plant (*Melastoma malabathricum* L.) is well known South-East Asia medicinal plant commonly used in diarrhea and wound disease. This research studied to isolate the antibacterial actified of triterpenoid compound from the fruit. Maseration methode is done by extraction from the fruit and the isolation was do by coloumn chromatography wich used Step Gradient Polarity (SGP) with n-hexane, ethyl acetate, and methanol as solvents. The most actified fraction occure at methanol that give white-yellow powder of isolate, then recrystalization with n-hexane and presence one band in TLC ( $R_f = 0,53$ ). From phytochemical, UV and IR spectroscopy analysis, isolate can identified as triterpenoid compound wich have  $-OH$ ,  $C=O$ ,  $C=C$ ,  $C-O$ , and  $-CH$  functional groups. The antibacterial activity test showed that the isolate succesfully inhibit *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* at concentration 1000 ppm.

Keywords : Antibacterial, *Melastoma malabathricum* L., triterpenoid, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	2
1.3. Tujuan Penelitian .....	2
1.4. Manfaat Penelitian .....	2
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	3
2.1. Tinjauan Botani .....	3
2.1.1. Tanaman Senduduk .....	3
2.1.2. Morfologi Tanaman senduduk .....	4
2.2. Terpenoid .....	4
2.2.1 Tinjauan Terpenoid .....	4
2.2.1 Tinjauan Terpenoid .....	5
2.3. Triterpenoid .....	6
2.3.1. Deteksi Triterpenoid .....	8
2.3.2. Metoda Isolasi Terpenoid .....	9
2.4. Karakterisasi Terpenoid .....	10
2.5. Antibakteri .....	10
2.5.1. Komponen Antibakteri .....	10
2.5.2. Mekanisme Kerja Penghambatan Senyawa Antibakteri .....	11
2.5.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri .....	12

2.5.4. Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	13
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>14</b>
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	14
3.2. Alat dan Bahan .....	14
3.2.1. Alat .....	14
3.2.2. Bahan.....	14
3.3. Pengambilan dan Persiapan sampel .....	14
3.4. Uji Profil Fitokimia .....	15
3.4. Ekstraksi, Pemurnian dan Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi.....	16
3.5.1. Ekstraksi .....	16
3.5.2. Pemurnian.....	17
3.5.3. Karakterisasi Senyawa hasil Isolasi .....	18
3.5.3.1. Uji Fitokimia .....	18
3.5.3.2. Karakterisasi Fisika .....	19
3.5.3.3. Karakterisasi Kimia.....	19
3.6. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Murni Hasil Isolasi dengan Metoda Cakram .....	19
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>21</b>
4.1. Uji Profil Fitokimia .....	21
4.2. Ekstraksi, Pemurnian dan Karakterisasi Senyawa Triterpenoid .....	21
4.2.1. Ekstraksi Senyawa Triterpenoid .....	21
4.2.2. Pemurnian Senyawa Triterpenoid .....	24
4.2.3. Karakterisasi Senyawa Triterpenoid .....	27
4.2.3.1. Uji Fitokimia .....	27
4.2.3.2. Karakterisasi Fisika .....	27
4.2.3.3. Karakterisasi Kimia.....	27
4.3. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Murni Hasil Isolasi dengan Metoda Cakram .....	29



<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>31</b>
5.1. Kesimpulan.....	31
5.2. Saran.....	31
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>32</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>34</b>



## DAFTAR TABEL

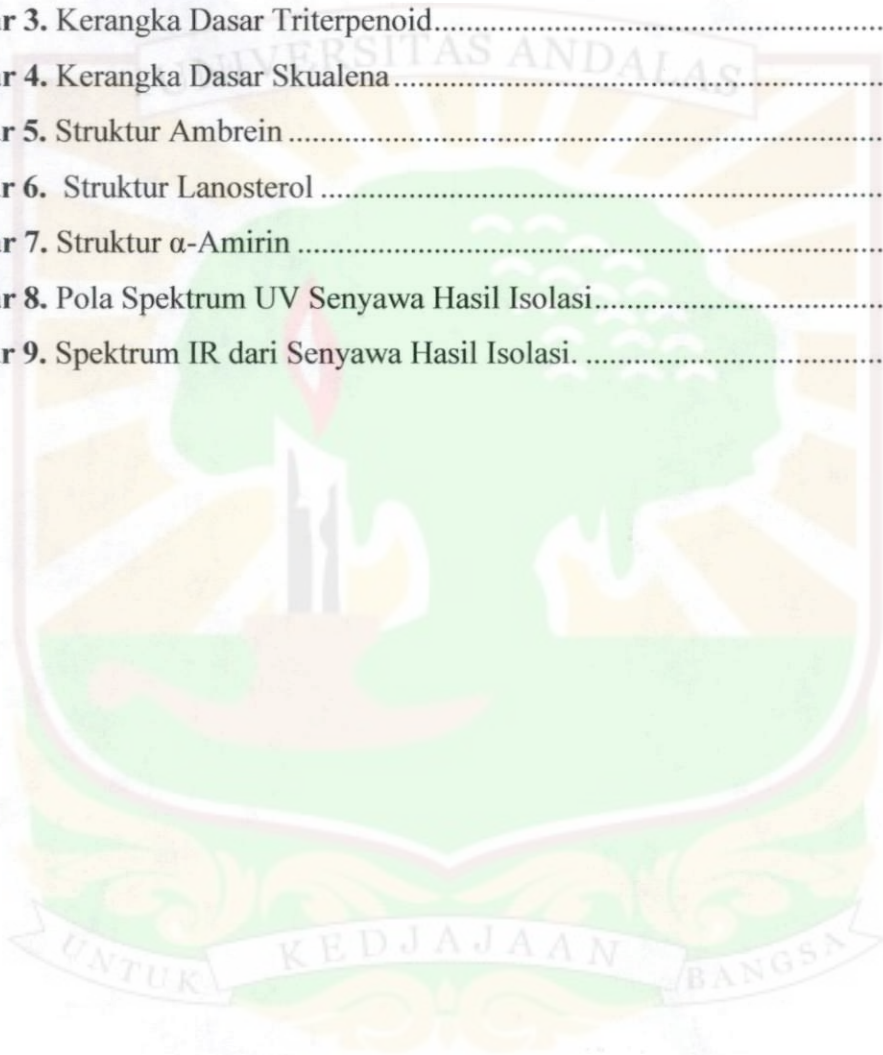
	Halaman
<b>Tabel 1.</b> Kelompok Terpenoid Berdasarkan Jumlah Atom Karbon .....	6
<b>Tabel 2.</b> Uji Pendahuluan Profil Fitokimia Bagian Buah dari Tanaman Senduduk .....	21
<b>Tabel 3.</b> Berat Masing-masing Ekstrak Kasar .....	22
<b>Tabel 4.</b> Uji Antibakteri Masing-masing Fraksi .....	22
<b>Tabel 5.</b> Pola Noda Fraksi Metanol pada KLT yang Dimonitor di Bawah Lampu UV .....	23
<b>Tabel 6.</b> Hasil Penggabungan Fraksi dari Kromatografi Kolom .....	25
<b>Tabel 7.</b> Hasil Uji KLT Senyawa Hasil Isolasi dengan Beberapa Perbandingan Komposisi Eluen .....	26
<b>Tabel 8.</b> Uji Antibakteri pada Senyawa Triterpenoid Murni Hasil Isolasi .....	30



## DAFTAR GAMBAR

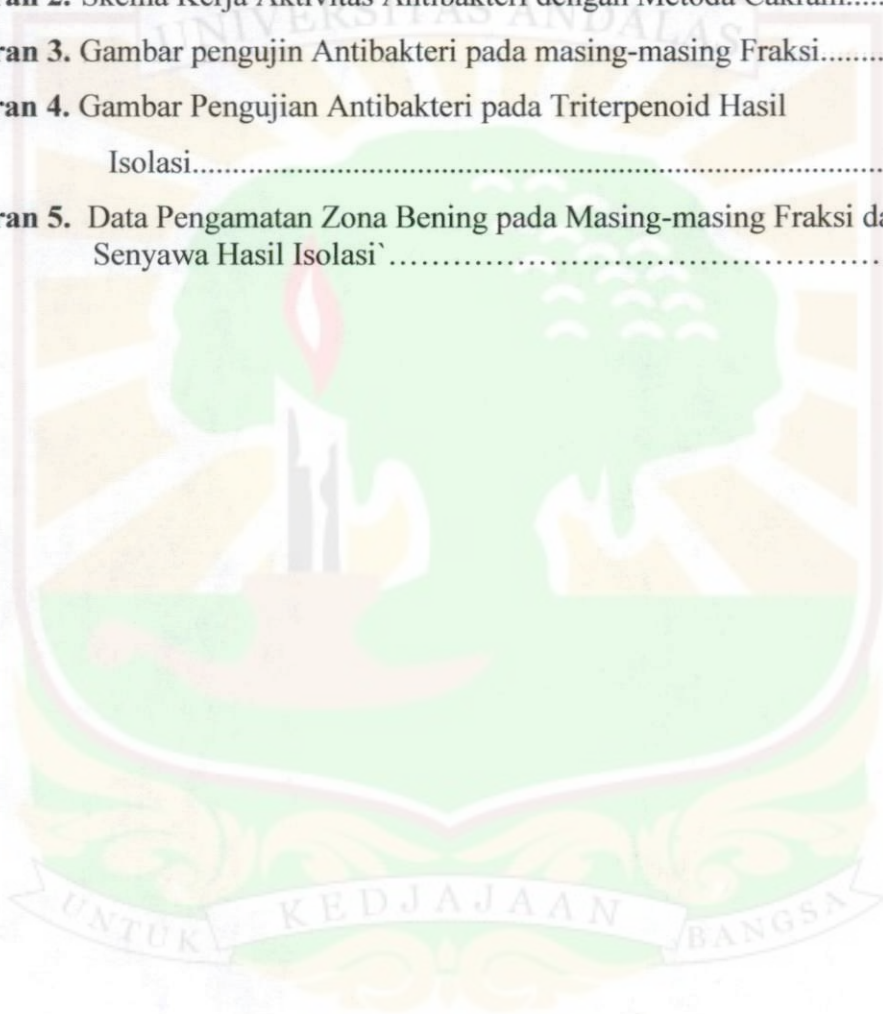
Halaman

<b>Gambar 1.</b> Buah Senduduk .....	3
<b>Gambar 2.</b> Biosintesa Terpenoid .....	5
<b>Gambar 3.</b> Kerangka Dasar Triterpenoid.....	7
<b>Gambar 4.</b> Kerangka Dasar Skualena.....	7
<b>Gambar 5.</b> Struktur Ambrein .....	7
<b>Gambar 6.</b> Struktur Lanosterol .....	8
<b>Gambar 7.</b> Struktur $\alpha$ -Amirin .....	8
<b>Gambar 8.</b> Pola Spektrum UV Senyawa Hasil Isolasi.....	28
<b>Gambar 9.</b> Spektrum IR dari Senyawa Hasil Isolasi. ....	28



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran 1.</b> Skema Kerja Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Aktif Antibakteri pada Buah Tanaman Senduduk ( <i>Melastoma malabathricum</i> L).....	34
<b>Lampiran 2.</b> Skema Kerja Aktivitas Antibakteri dengan Metoda Cakram.....	36
<b>Lampiran 3.</b> Gambar pengujin Antibakteri pada masing-masing Fraksi.....	37
<b>Lampiran 4.</b> Gambar Pengujian Antibakteri pada Triterpenoid Hasil Isolasi.....	39
<b>Lampiran 5.</b> Data Pengamatan Zona Bening pada Masing-masing Fraksi dan Senyawa Hasil Isolasi` .....	40



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Tanaman obat merupakan jenis tanaman yang dikenal mampu meminimalisir ataupun mengobati suatu penyakit. Mulai dari bagian daun, buah, kulit batang dan akar dari tanaman ini berkhasiat bagi pengobatan tradisional. Khasiat dari berbagai tanaman obat sudah diketahui secara turun-temurun, khususnya bagi masyarakat di pedesaan.

Penggunaan tanaman obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit telah lama dilakukan manusia. Hal ini mendorong para ahli untuk mengkaji kandungan tanaman tersebut yang berperan sebagai sumber obat. Sampai saat ini masih banyak manfaat dari tanaman obat yang belum diketahui dan diteliti lebih lanjut. Hal ini mendorong para ahli untuk melakukan penelitian tentang isolasi, sintesis, uji bioaktifitas dan pemanfaatannya lebih lanjut. Salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai bahan makanan dan obat tradisional adalah tanaman senduduk.

Umumnya, semua bagian tanaman senduduk memiliki khasiat yang dapat menyembuhkan atau mengobati penyakit tertentu. Bagian daun dapat digunakan untuk sayuran, mengobati penyakit diare, disentri, sariawan, kencing manis, dan digunakan pada luka terbuka. Bagian akar digunakan untuk menyembuhkan penyakit kulit dan pada luka bakar. Bagian buah dapat menghentikan pendarahan pada rahim, menghentikan pendarahan pada luka terbuka dan luka bakar.<sup>1,2</sup>

Senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman senduduk pada umumnya adalah flavonoid dan tanin. Bagian daun mengandung saponin, flavonoid, dan tanin. Bagian buah mengandung fenolik dan steroid, dan pada bagian akar terkandung steroid.<sup>1,3</sup> Hal inilah yang melatarbelakangi penelitian untuk mengisolasi senyawa aktif triterpenoid yang akan digunakan sebagai antibakteri dari bagian buah tanaman senduduk ini.

Penelitian ini dilakukan dengan metoda ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol. Pemisahan dan pemurnian komponen kimia dilakukan dengan kromatografi, serta karakterisasi

senyawa dengan melakukan pemeriksaan secara konvensional dan spektrofotometri.

## **1.2. Perumusan Masalah**

Permasalahan yang melatarbelakangi penelitian ini adalah usaha pemanfaatan buah dari tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum* L) secara umum baru sebatas pemanfaatan langsung sebagai obat tradisional dalam penyembuhan pada beberapa penyakit. Untuk itu perlu dilakukan kajian lebih lanjut tentang kandungan dan potensi kimia dari buah senduduk (*Melastoma malabathricum* L) ini.

## **1.3. Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa triterpenoid yang aktif antibakteri dari buah tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum* L).

## **1.4. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang adanya senyawa triterpenoid yang terkandung pada buah tanaman senduduk sehingga menambah perkembangan ilmu pengetahuan kimia khususnya di bidang Kimia Organik Bahan Alam. Selain itu, senyawa triterpenoid yang didapat diharapkan dapat bermanfaat sebagai anti bakteri.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan Botani

##### 2.1.1. Tanaman Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Klasifikasi dari tumbuhan ini adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Tracheobionta
- Sub Divisi : Spermatophyta
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Sub Kelas : Dilleniidae
- Ordo : Theales / Myrtales
- Famili : Melastomaceae
- Genus : Melastoma
- Spesies : *Melastoma malabathricum* L.<sup>1,2</sup>

Bentuk dari buah tanaman senduduk dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Buah senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Nama daerah tumbuhan ini di Sumatera adalah senduduk, sedangkan di Jawa dikenal dengan nama senggani, senganen, kluruk, harendong dan kemanden.<sup>4</sup>

### **2.1.2. Morfologi Tanaman**

Tanaman senduduk merupakan tanaman perdu yang bercabang banyak dengan tinggi mencapai 3 m, diameter batang mencapai 10 cm. Daun menyerupai bentuk bulat telur, lonjong, ujungnya lancip dan terasa kasar jika diraba. Buah dari tanaman ini berwarna merah sampai keunguan dan jika matang kulit buah akan merekah dan pecah. Biji buah berwarna ungu sampai kehitaman, dan berasa manis jika dimakan. Bagian daun mengandung senyawa  $\beta$ -sitosterol, asam asiatic, kaempferol, malabathrin, strictinin, casuarictin, nobotanin, pedunculagin, pterocarinin, stachyurin, procyanidin, stenophyflarin, epicatechin, alienanin,  $\alpha$ -amyrin, uvaolo, quercetin, quercitrin, rutin, patris cabratine, dan auranamide. Pada bagian akar mengandung senyawa  $\beta$ -sitosterol dan betulliric acid. Sedangkan pada bagian buah mengandung senyawa sianidin-3-glikosida dan sianidin-3,5-diglikosida.<sup>3</sup>

## **2.2. Terpenoid**

### **2.2.1. Tinjauan Terpenoid**

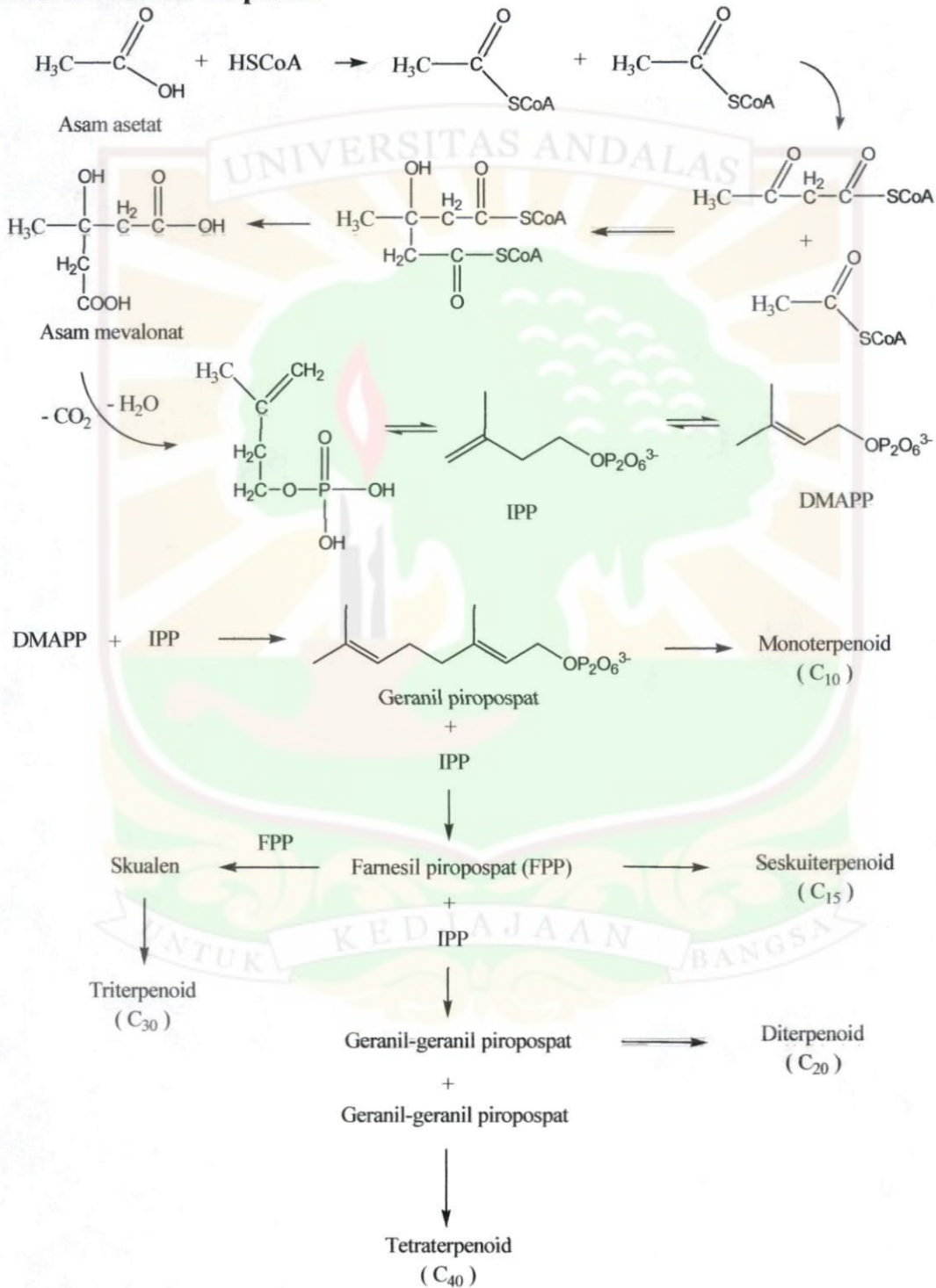
Terpenoid adalah senyawa yang hanya mengandung atom karbon dan hidrogen atau karbon, hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatik. Senyawa ini paling banyak tersebar luas pada dunia tumbuhan, terutama yang mengandung klorofil dan sedikit sekali diperoleh dari bakteri dan hewan. Sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh beberapa unit isopren yang bergabung secara kepala dan ekor.<sup>3,4</sup>

Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat didalam sitoplasma sel tumbuhan. Terkadang, senyawa golongan terpenoid terdapat didalam kelenjer khusus pada permukaan daun, sedangkan karatenoid terutama berhubungan dengan kloroplas di dalam daun dan dengan kromoplas di dalam daun bunga. Terpenoid memiliki peranan yang bermacam-macam, salah satunya adalah absidin yang berasal dari golongan seskuiterpen dan giberelin yang berasal



dari golongan diterpenoid memiliki sifat yang dapat mengatur pertumbuhan. Begitu pula karotenoid yang berasal dari golongan tetraterpenoid berfungsi sebagai warna tumbuhan dan merupakan pigmen pembantu proses fotosintesis.<sup>4,5</sup>

### 2.2.2. Biosintesis Terpenoid



**Gambar 2.** Biosintesa terpenoid

Berdasarkan mekanisme di atas, maka Harborne dan Manitto membagi senyawa terpenoid ke dalam beberapa kelompok sebagai pada Tabel 1 berikut:

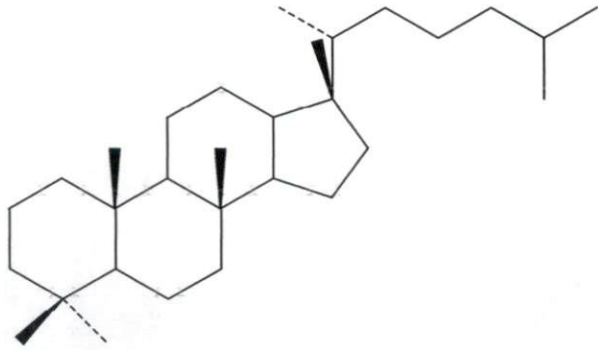
**Tabel 1.** Kelompok Terpenoid Berdasarkan Jumlah Atom Karbon

No.	Jenis terpenoid	Jumlah atom karbon
1.	Monoterpenoid	10
2.	Seskuiterpenoid	15
3.	Diterpenoid	20
4.	Triterpenoid	30
5.	Tetraterpenoid	40
6.	Politerpenoid	>40

### 2.3 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang berasal dari 6 unit isopren dengan jumlah atom karbon sebanyak 30 atom karbon. Senyawa ini merupakan komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, beberapa senyawa triterpenoida menunjukkan aktivitas antibakteri atau antivirus.<sup>4,5</sup>

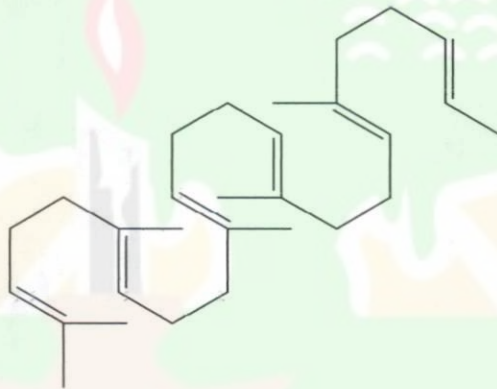
Triterpenoid di alam kebanyakan ditemukan memiliki gugus fungsi berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat yang merupakan senyawa tidak berwarna, berbentuk kristal dan sering kali bertitik leleh tinggi. Pengujian yang banyak dilakukan untuk mendeteksi senyawa triterpenoid adalah dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard (anhidrida asetat dan asam sulfat pekat) yang memberikan warna merah-ungu.<sup>4,5</sup> Kerangka dari senyawa triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Struktur triterpenoid

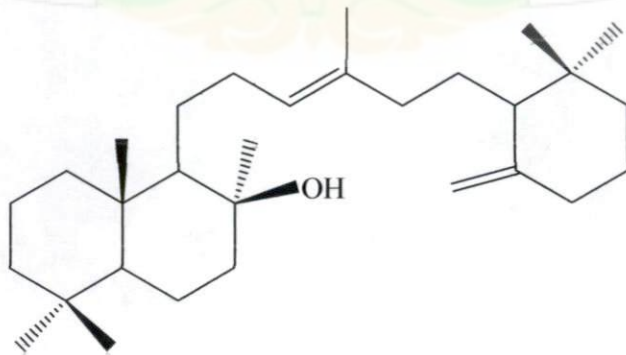
Berdasarkan jumlah cincin yang terdapat dalam struktur molekulnya triterpenoid sebenarnya dapat dibagi atas:

1. Triterpenoid asiklik yaitu triterpen yang tidak mempunyai cincin tertutup, misalnya skualena seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.



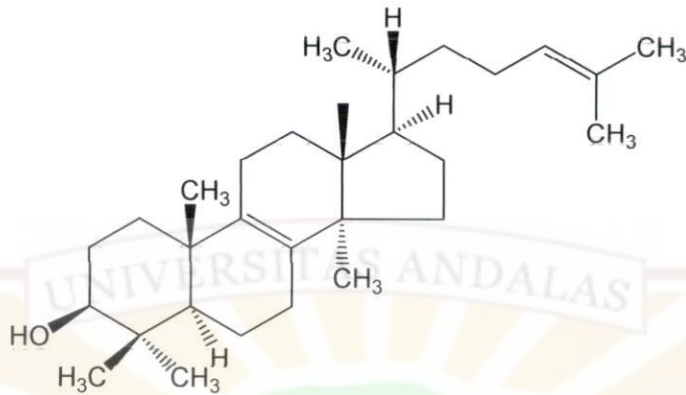
**Gambar 4.** Struktur skualena

2. Triterpenoid trisiklik adalah triterpen yang mempunyai tiga cincin tertutup pada struktur molekulnya, misalnya: ambrein yang memiliki struktur seperti ditunjukkan pada Gambar 5.



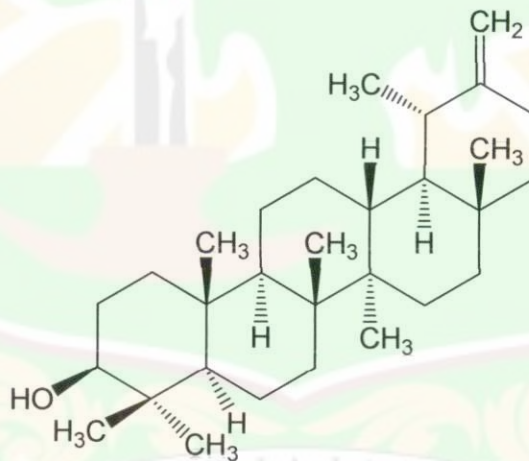
**Gambar 5.** Struktur ambrein

3. Triterpenoid tetrasiklik adalah triterpenoid yang mempunyai empat cincin tertutup pada struktur molekulnya, misalnya lanosterol dengan struktur seperti yang ditunjukkan pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Struktur lanosterol

4. Triterpenoid pentasiklik adalah triterpenoid yang mempunyai lima cincin tertutup pada struktur molekulnya, misalnya  $\alpha$ -amirin dengan struktur seperti pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Struktur  $\alpha$ -amirin

### 2.3.1 Deteksi Triterpenoid

Adanya triterpenoid dalam tumbuhan dapat diketahui dengan cara mengekstrak sampel dari bagian tanaman segar atau yang telah kering dalam etanol atau metanol, lalu dididihkan dan kemudian disaring dalam keadaan panas dan ditambahkan kloroform dan air suling dengan perbandingan 1:1 masing-masingnya sebanyak 5 mL, kocok dengan baik, kemudian dipindahkan ke dalam

pengoloman. Pada kromatografi kolom ada dua sistem eluen yang digunakan yaitu isokratik dengan menggunakan suatu campuran eluen untuk melulusi sampel secara terus-menerus dengan kepolaran yang sama dan sistem Step Gradient Polarity (SGP) dimana sampel dilulusi dengan menggunakan eluen yang kepolarannya terus ditingkatkan.

Fraksi-fraksi yang dihasilkan selanjutnya dikumpulkan, kemudian dimonitor dengan Kromatografi Lapisan Tipis (KLT). KLT berguna untuk menentukan jumlah komponen yang terdapat dalam suatu senyawa dan menentukan komposisi fasa gerak (eluen) yang cocok untuk memisahkan komponen yang terkandung di dalam sampel. Sebagai fasa diam digunakan silika gel yang diimmobilisasi pada suatu plat dan sebagai fasa gerak digunakan pelarut yang ditempatkan pada suatu wadah.

#### **2.4. Karakterisasi Triterpenoid**

Metode identifikasi kromatografi yang dapat digunakan untuk identifikasi triterpenoid dan turunannya adalah fluoresensi pada kromatografi lapisan tipis. Umumnya, senyawa turunan triterpenoid memberikan fluoresensi yang intensif setelah plat KLT yang dilulusi kemudian disemprot dengan asam sulfat pekat.

Kromatografi lapisan tipis dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa triterpenoid yang belum diketahui, dengan cara membandingkannya dengan senyawa triterpenoid yang sudah diketahui sebelumnya berdasarkan harga  $R_f$ -nya.  $R_f$  (*Retention factor*) merupakan perbandingan jarak yang ditempuh oleh komponen dengan jarak yang ditempuh oleh eluen. Sistem eluen yang digunakan bervariasi, dapat berupa satu jenis pelarut atau campuran dari beberapa jenis pelarut dengan kombinasi tertentu.

#### **2.5. Antibakteri**

##### **2.5.1 Komponen Antibakteri**

Komponen bakteri adalah suatu komponen yang bersifat dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Zat aktif yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa bakteri patogen

maupun merusak makanan. Zat aktif tersebut dapat berasal dari bagian tumbuhan seperti biji, buah, rimpang, batang, daun, dan umbi.

Konsentrasi minimum yang dibutuhkan untuk menghambat bakteri dan mikroba pada umumnya disebut dengan konsentrasi hambat minimum (KHM). Antimikroba yang aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif disebut dengan antimikroba berspektrum luas, sedangkan mikroba yang aktif terhadap salah satu jenisnya disebut berspektrum sempit.<sup>7</sup>

### **2.5.2 Mekanisme Kerja Penghambatan Senyawa Antibakteri**

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain :

#### **1. Mengganggu pembentukan dinding sel**

Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa bakteri dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Efek penghambatan senyawa antimikroba lebih efektif terhadap bakteri Gram positif daripada dengan bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan perbedaan komponen penyusun dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut. Pada bakteri Gram positif 90 persen dinding selnya terdiri atas lapisan peptidoglikan, selebihnya adalah asam teikoat, sedangkan bakteri Gram negatif komponen dinding selnya mengandung 5-20 persen peptidoglikan, selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida, dan lipoprotein.

#### **2. Bereaksi dengan membran sel**

Komponen bioaktif dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma, yang dapat mengakibatkan kebocoran materi intraseluler, seperti senyawa fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat pada membran sel.

### 3. Menginaktivasi enzim

Mekanisme yang terjadi menunjukkan bahwa kerja enzim akan terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba, sehingga mengakibatkan enzim akan memerlukan energi dalam jumlah besar untuk mempertahankan kelangsungan aktivitasnya. Akibatnya energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang sehingga aktivitas mikroba menjadi terhambat atau jika kondisi ini berlangsung lama akan mengakibatkan pertumbuhan mikroba terhenti (inaktif). Efek senyawa antimikroba dapat menghambat kerja enzim jika mempunyai spesifitas yang sama antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antimikroba.

### 4. Menginaktivasi fungsi material genetik

Komponen bioaktif dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (RNA dan DNA), menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga terganggunya proses pembelahan sel untuk pembiakan.

## 2.5.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh faktor-faktor sebagai berikut:<sup>8</sup>

#### 1. Konsentrasi

Konsentrasi suatu zat yang digunakan bergantung kepada bahan aktif dari suatu zat tersebut dan bakteri yang akan diuji.

#### 2. Waktu

Pemberian suatu zat yang digunakan dalam waktu yang lama akan memberikan waktu yang cukup bagi zat tersebut untuk bekerja.

#### 3. Suhu

Secara umum peningkatan suhu mempercepat laju reaksi kimia, demikian pula terhadap zat yang digunakan.

#### 4. pH

Keadaan pH dapat menentukan apakah suatu zat dapat menghambat atau membunuh bakteri.<sup>8</sup>

#### 2.5.4. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Penentuan kepekaan sampel terhadap bakteri dapat dilakukan dengan metoda cakram dari dalam wadah berisi medium agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter daerah bening (clear zone) disekitar wadah diukur. Diameter ini merupakan daerah inhibisi dari ekstrak sampel terhadap bakteri uji.

Pada penelitian ini metoda yang digunakan adalah metoda cakram. Cara ini menggunakan cakram yang dibuat dari kertas saring Whatman no.42 yang steril. Cakram yang telah direndam sampel diletakkan dalam media pembenihan dan diinokulasikan dengan bakteri uji pada suhu 37°C selama 18-24 jam.<sup>9</sup>



MILIK  
UPT PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS ANDALAS



## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Februari 2011 sampai dengan Oktober 2011 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.

#### 3.2. Alat dan Bahan

##### 3.2.1. Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, rotary evaporator Heidolph WB 2000, spektrofotometer ultraviolet Secoman S1000 PC dan FTIR Perkin Elmer 1600 series, lampu UV  $\lambda = 254$  dan 356 nm, oven, kertas saring Whatman no.42, plat KLT, cawan petridish, pembakar spiritus, aluminium foil, kolom kromatografi serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

##### 3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah buah tanaman senduduk yang telah dikeringanginkan, Nutrient Agar (NA), bakteri *S.aureus* dan *E.coli* serta bahan kimia berupa pelarut organik seperti metanol teknis yang didistilasi, etanol teknis yang didistilasi, etil asetat teknis yang didistilasi, n-heksan teknis didistilasi, dan bahan kimia lainnya seperti amonia 5%, klorofom, asam klorida pekat, logam magnesium, besi (III) klorida, anhidrida asetat, asam sulfat pekat, pereaksi Meyer, akuades, dan silika gel 60 Art. 7733 keluaran Merck.

#### 3.3. Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang diperlukan untuk penelitian diperoleh di daerah Skeep Mata Air, Kelurahan Mata Air, Kecamatan Padang Selatan, Sumatera Barat. Bagian yang akan diteliti adalah buah yang telah dikeringanginkan pada udara terbuka dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung sampai kering. Untuk persiapan sampel, sampel kering tersebut kemudian digiling halus sampai berbentuk serbuk lalu ditimbang.

### 3.4. Uji Profil Fitokimia

Metode pemeriksaan kandungan flavonoid, triterpenoid, steroid, dan senyawa fenolik diadopsi dari Simens et.al<sup>8</sup>., dimana sampel bubuk kering sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimaserasi dengan metanol yang telah dipanaskan (di atas penangas air) selama 15 menit. Kemudian disaring dalam keadaan panas ke dalam tabung reaksi lain dan ditambahkan kloroform dan air suling dengan perbandingan 1:1 masing-masingnya sebanyak 5 mL, kocok dengan baik, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi, biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform di bagian bawah digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid, sedangkan lapisan asam atau lapisan air di bagian atas digunakan untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin.

#### 1. Pemeriksaan Flavonoid (Sianidin Tes)

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan menggunakan pipet ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan asam klorida pekat dan beberapa butir bubuk magnesium, terbentuknya warna orange sampai merah menunjukkan adanya flavonoid (kecuali untuk flavon).

#### 2. Pemeriksaan Fenolik

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan pipet ke dalam tabung reaksi kecil, kemudian tambahkan pereaksi besi (III) klorida, terbentuknya warna biru/ungu menandakan adanya kandungan senyawa fenolik.

#### 3. Pemeriksaan Saponin

Dari lapisan air, kocok kuat-kuat dalam sebuah tabung reaksi, terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan beberapa tetes asam klorida pekat menunjukkan adanya saponin.

#### 4. Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid (Liebermann-Burchard)

Dari lapisan kloroform diambil sedikit dan dimasukkan ke dalam tiga lubang plat tetes, biarkan hingga kering. Ke dalam satu lubang plat tetes ditambahkan asam sulfat pekat, ke dalam lubang plat tetes lainnya ditambahkan setetes

anhidrida asetat dan setetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna hijau atau hijau biru menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuknya warna merah atau merah ungu menandakan adanya triterpenoid.

#### 5. Pemeriksaan Alkaloid

Sampel sebanyak 2 – 4 gram dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dalam lumpang dengan penambahan sedikit pasir dan 10 mL kloroform-amoniak 0,05 N, kemudian diaduk/digerus perlahan. Larutan disaring dengan corong kecil, di dalamnya diletakkan kapas sebagai penyaring dan hasil saringan dimasukkan ke dalam sebuah tabung reaksi, kemudian tambahkan 10 tetes asam sulfat 2 N dan kocok secara perlahan. Biarkan sejenak sampai terbentuk pemisahan lapisan asam dan kloroform. Lapisan asam diambil dengan bantuan pipet dan dipindahkan ke dalam sebuah tabung reaksi. Kemudian tambahkan pereaksi Meyer, reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih (+4), kabut putih tebal (+3), kabut putih tipis (+2), kabut putih sangat tipis (+1).

#### 6. Pemeriksaan Kumarin

Sampel sebanyak 2 – 5 gram dirajang halus dan diekstrak dengan pelarut metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering pada udara terbuka. Kemudian dielusi dalam bejana yang berisi 10 mL eluen etil asetat 100%. Noda yang dihasilkan dimonitor di bawah lampu UV (365 nm). Hasil KLT kemudian disemprot dengan larutan natrium hidroksida 1% dalam etanol : air (1 : 1), dan selanjutnya dilihat dibawah lampu UV (365 nm). Adanya fluoresensi yang bertambah terang setelah disemprot dengan natrium hidroksida 1% menandakan adanya senyawa kumarin.

### 3.5. Ekstraksi, Pemurnian dan Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

#### 3.5.1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode yang biasa digunakan untuk menarik komponen-komponen kimia di dalam tumbuhan dengan menggunakan pelarut, sehingga komponen kimia yang diinginkan tertarik keluar bersama pelarut.

Sebanyak 1,2 kg bagian buah tanaman senduduk yang telah dikering anginkan dan dihaluskan hingga menjadi serbuk, diekstraksi dengan

menggunakan metoda maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk menggunakan pelarut di dalam botol gelap yang dibagi menjadi 3 botol dimana masing-masing botol berisikan 0,4 kg serbuk. Pelarut pertama yang digunakan untuk maserasi adalah n-heksan, pelarut dimasukkan ke dalam botol hingga ketinggian permukaan pelarut berada pada  $\pm 2$  cm di atas permukaan serbuk. Penggantian pelarut dilakukan setiap 4 hari sekali sampai pelarut tidak mampu lagi untuk mengekstrak senyawa pada serbuk yang ditandai dengan pelarut yang tidak berwarna lagi (bening) setelah dilakukan perendaman. Filtrat hasil maserasi ditampung pada botol gelap, sedangkan bagian ampas diekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat dengan perlakuan yang sama pada penggunaan pelarut n-heksan selama proses maserasi sampai diperoleh filtrat hasil ekstraksi. Bagian ampas setelah proses maserasi dengan pelarut etil asetat kemudian diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol, perlakuan maserasi juga sama dengan proses ekstraksi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat sampai diperoleh filtrat. Masing-masing filtrat hasil maserasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental masing-masing filtrat maserasi (fraksi). Teknik maserasi dipilih karena sifat senyawa yang terdapat dalam sampel belum diketahui dengan jumlah sampel yang cukup banyak. Di samping itu pengerjaan dengan teknik ini lebih mudah dan sederhana.

### **3.5.2. Pemurnian**

Pemisahan komponen-komponen yang terdapat di dalam masing-masing fraksi dilakukan dengan kromatografi lapisan tipis (KLT) dan kromatografi kolom (KK). Uji KLT dilakukan dengan menggunakan berbagai perbandingan pelarut, mulai dari pelarut yang non polar hingga pelarut yang bersifat polar sehingga diperoleh hasil pemisahan komponen-komponen yang terdapat dalam masing-masing fraksi. Uji KLT bertujuan untuk menentukan jumlah komponen senyawa yang terkandung dalam fraksi berdasarkan jumlah dan warna noda yang terbentuk pada plat KLT. Untuk melihat pola noda yang terbentuk pada plat KLT digunakan lampu UV dan reagen pengungkap noda untuk masing-masing senyawa yang spesifik. Pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika

gel dan fasa geraknya menggunakan sistem isokratik atau elusi bergradien (*Step Gradien Polarity*).

Kolom silika gel dibuat dengan mensuspensikan silika gel dengan pelarut n-heksana sehingga dihasilkan bubuk silika yang bertujuan untuk menghomogenkannya dan menghilangkan kemungkinan adanya gelembung udara yang akan mengganggu pada proses pemisahan. Kemudian bubuk silika ini dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang bagian dasarnya telah dimasukkan kapas sebelumnya sebagai penyaring yang terlebih dahulu dicuci dengan menggunakan n-heksan dengan tujuan menghilangkan lemak yang terdapat dalam kapas yang akan digunakan.

Sampel yang akan diuji dipreadsorpsi terlebih dahulu, yaitu dengan mencampurkan sampel dengan silika gel dengan perbandingan 1 : 1. Preadsorpsi diawali dengan melarutkan ekstrak atau sampel yang akan dikolom dengan pelarut yang melarutkannya, lalu dihomogenkan dengan silika gel dan kemudian diuapkan pelarutnya hingga kering. Setelah itu sampel yang telah dipreadsorpsi dimasukkan ke dalam kolom yang telah disiapkan.

Selanjutnya dilakukan elusi berdasarkan perbandingan eluen yang diperoleh dari uji KLT. Fraksi-fraksi yang keluar dari kolom ditampung dengan botol vial, kemudian dianalisa pola pemisahan nodanya dengan plat KLT. Fraksi yang memiliki pola noda dan Rf yang sama digabung sehingga didapatkan fraksi yang lebih kecil. Fraksi yang positif terhadap uji flavonoid dimurnikan dengan rekristalisasi berulang-ulang sampai didapatkan noda yang tunggal dengan berbagai perbandingan eluen pada plat KLT.

### **3.5.3. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi**

Karakterisasi senyawa hasil isolasi meliputi pengujian fitokimia, karakterisasi fisika dan kimia.

#### **3.5.3.1 Uji Fitokimia**

Untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder hasil isolasi, dilakukan pemeriksaan menggunakan pereaksi warna dengan menggunakan asam sulfat pekat dan anhidrida asetat (1:1) untuk pengujian triterpenoid/steroid, Dragendorff

alkaloid, logam magnesium/asam klorida untuk flavonoid, natrium hidroksida 5% untuk kumarin dan asam klorida pekat untuk pengujian saponin.<sup>10,11,12,13</sup>

### **3.5.3.2 Karakterisasi Fisika**

Pemeriksaan fisika meliputi kelarutan, titik lebur, pola spektrum UV dan IR. Uji kelarutan dilakukan dengan melarutkan senyawa hasil isolasi dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Untuk penentuan titik lebur dilakukan dengan alat "Fisher-Jhon Melting Point Apparatus". Untuk menentukan titik lelehnya sedikit kristal hasil isolasi dimasukkan ke dalam kapiler dan ditempatkan pada alat penentuan titik leleh, yaitu dengan cara menghidupkan alat dan atur kenaikan suhu sedikit demi sedikit. Catat suhu saat kristal hasil isolasi mulai meleleh dan catat pula saat meleleh sempurna.

### **3.5.3.3 Karakterisasi Kimia**

Untuk memperoleh spektrum ultraviolet digunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Kira-kira 1 mg sampel dilarutkan kedalam 100 mL metanol. Alat spektrofotometer diatur daerah serapannya antara 200 – 400 nm. Masukkan larutan sampel kedalam kuvet dan ukur serapannya dan tentukan serapan maksimumnya. Untuk memperoleh spektrum inframerah, 1 mg sampel digerus dengan 100 mg KBr sampai homogen. Kemudian dijadikan pelet dengan memberikan tekanan tinggi. Letakkan pelet pada alat spektrofotometri inframerah dan ukur spektranya.

## **3.6 Uji Aktivitas Anti Bakteri dengan Metoda Cakram**

Masing-masing fraksi dan senyawa murni hasil isolasi dilakukan uji bioaktivitas antibakteri dengan metoda cakram. Tahap pengujian uji bioaktivitas adalah sebagai berikut :

### **a. Peremajaan bakteri**

Diambil 1 ose biakan bakteri, lalu digoreskan pada agar miring. Inkubasi pada suhu kamar didalam enkas, dan selanjutnya bakteri yang digunakan untuk pengujian adalah bakteri yang berumur 24 jam atau lebih.

b. Prosedur uji bioaktifitas

Disiapkan cawan petri yang telah di sterilisasi, kemudian diisi dengan medium NA sebanyak  $\pm 15$  mL yang telah di-*autoclave*. dibiarkan dingin dan mengeras. Lalu dimasukkan  $\pm 1$  mL akuades ke dalam biakan bakteri, kemudian biakan bakteri diteteskan tersebut sebanyak 2 tetes dengan menggunakan pipet tetes ke atas permukaan medium NA dan diratakan. Setelah penginokulasian biakan bakteri, selanjutnya diletakkan dengan hati-hati cakram yang berisi sampel di atas permukaan medium. Diamati daerah bening (halo) yang terbentuk pada medium setelah 1 hari dan Mikrobial Indeks (MI) dihitung dengan rumus.<sup>9</sup>

$$\text{Mikrobial Indeks} = \frac{\text{diameter halo-diameter cakram (cm)}}{\text{diameter cakram (cm)}}$$

Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dari jenis gram positif dan *Escherichia coli* (*E. coli*) dari jenis gram negatif.<sup>9,10,11,12</sup>

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1.1. Uji profil fitokimia

Pada bagian buah tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) dilakukan uji pendahuluan profil fitokimia seperti yang dicantumkan pada Tabel 2 .

**Tabel 2.** Uji Pendahuluan Profil Fitokimia Bagian Buah Tanaman Senduduk.

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Keterangan
1.	Alkaloid	Dragendorff, Meyer	+
2.	Flavonoid	Shinoda (Mg/HCl)	+
3.	Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	+
4.	Kumarin	NaOH 1% + Fluoresensi dengan UV	+
5.	Triterpenoid	Liebermann-Burchard	+
6.	Steroid	Liebermann-Burchard	+
7.	Saponin	Pengocokan + HCl	+

Keterangan : ( + ) : ada

Berdasarkan pada keterangan tabel di atas, dapat disimpulkan bahwa bagian buah tanaman senduduk mengandung golongan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, fenolik, kumarin, triterpenoid, steroid, dan saponin.

### 4.2. Ekstraksi, Pemurnian dan Karakterisasi Senyawa Triterpenoid

#### 4.2.1 Ekstraksi Senyawa Triterpenoid

Setelah dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol dari 1,2 kg sampel, diperoleh beberapa fraksi (ekstrak kasar) yang dapat dilihat pada Tabel 3.



**Tabel 3.** Berat Masing-masing Ekstrak Kasar

No.	Fraksi	Berat (g)
1.	n-heksan	21,01
2.	Etil asetat	23,57
3.	Metanol	110,11

Dari Tabel 3 dapat disimpulkan bahwa dari ketiga jenis fraksi di atas, fraksi metanol lebih memiliki kemampuan mengekstrak yang paling banyak, hal ini ditandai dari berat ekstrak kasar yang diperoleh yang lebih besar dibandingkan berat ekstrak kasar pada n-heksan dan etila setat.

Untuk menentukan fraksi yang aktif antibakteri, ketiga fraksi tersebut selanjutnya dilakukan pengujian antibakteri dengan mengamati zona bening yang terbentuk, metoda yang digunakan adalah metoda cakram. Bakteri yang digunakan untuk pengujian adalah *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) dari jenis gram positif dan *Escherichia coli* (*E.coli*) dari jenis gram negatif, dimana pengerjaannya dilakukan *duplo* dengan konsentrasi masing-masing fraksi 1000 ppm.<sup>11</sup> Hasil pengamatan terhadap zona bening yang terbentuk pada masing-masing serta nilai mikrobial indeksnya dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Uji Antibakteri Masing-masing Fraksi

No.	Fraksi	Bakteri			
		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
		Mikrobial indeks			
1.	Metanol	0,58	0,25	0,83	0,67
2.	Etil asetat	0,25	0,17	0,58	0,5
3.	n-heksan	-	-	-	-

Keterangan : - = tidak terdapat zona bening

Berdasarkan tabel di atas, dapat disimpulkan bahwa fraksi yang aktif sebagai antibakteri pada bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* adalah fraksi metanol dan fraksi etil asetat. Fraksi yang dipilih untuk pengerjaan selanjutnya adalah fraksi metanol karena memiliki nilai mikrobial indeks yang lebih besar pada kedua jenis bakteri uji. Fraksi tersebut kemudian dilihat pola pemisahan senyawa (noda) yang

terkandung dengan menggunakan KLT yang dimonitor menggunakan lampu UV dengan mengelusi fraksi tersebut menggunakan semua perbandingan campuran eluen (pelarut) dari non polar sampai pada eluen polar seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Pola Noda Fraksi Metanol pada KLT yang Dimonitor dengan lampu UV

No.	Eluen	Jumlah noda	Warna noda (UV)		Rf
			$\lambda$ 365 nm		
1.	n-heksana 100%	-	-	-	-
2.	n-heksana : etil asetat ( 9 : 1 )	3 noda	Biru, ungu, coklat (totolan)	-	-
3.	n-heksana : etil asetat ( 8 : 2 )	3 noda	Biru, ungu, coklat (totolan)	0,36 ; 0,09	
4.	n-heksana : etil asetat ( 7 : 3 )	3 noda	Biru, ungu, coklat (totolan)	0,61 ; 0,52	
5.	n-heksana : etil asetat ( 6 : 4 )	4 noda	Ungu, biru, merah muda, coklat (totolan)	0,70 ; 0,61	
6.	n-heksana : etil asetat ( 5 : 5 )	4 noda	Ungu, biru, merah muda, coklat (totolan)	0,95 ; 0,81 ; 0,32	
7.	n-heksana : etil asetat ( 4 : 6 )	4 noda	Ungu, biru, merah muda, coklat (totolan)	0,82 ; 0,81 ; 0,32	
8.	n-heksana : etil asetat ( 3 : 7 )	5 noda	Ungu, biru, ungu, merah muda, coklat (totolan)	0,91 ; 0,86 ; 0,79 ; 0,45	
9.	n-heksana : etil asetat ( 2 : 8 )	4 noda	Merah muda, ungu, kuning kehijauan, coklat (totolan)	0,93 ; 0,72 ; 0,59	
10.	n-heksana : etil asetat ( 1 : 9 )	4 noda	Merah muda, ungu, kuning kehijauan, coklat (totolan)	0,93 ; 0,72 ; 0,59	
11.	Etil asetat 100%	1 noda, 1 noda tailing	Merah muda, coklat	0,34	
12.	Etil asetat : metanol ( 7 : 3 )	2 noda , 1 noda tailing	Ungu, merah muda, coklat	0,85 ; 0,81	

**Tabel 6.** Hasil penggabungan fraksi dari kromatografi kolom.

No.	Fraksi	Vial	Jumlah noda	Rf
1.	A	1 – 25	Tidak ada noda	-
2.	B	26 – 29	1 noda memanjang	0,57
3.	C	30 – 34	3 noda berdekatan	0,57 ; 0,45 ; 0,40
4.	D	35 – 40	1 noda memanjang	0,66
5.	E	41 – 44	1 noda memanjang	0,69
6.	F	45 – 80	1 noda	0,58
7.	G	81 – 175	1 noda	0,48
8.	H	176 – 179	1 noda	0,57
9.	I	180 – 189	1 noda	0,58
10.	J	190 – 204	2 noda berdekatan	0,81 ; 0,71
11.	K	205 – 221	1 noda	0,57
12.	L	222 – 224	1 noda memanjang dan berekor	0,48
13.	M	225 – 229	1 noda memanjang dan berekor	0,64
14.	N	230 – 236	1 noda memanjang dan berekor	0,66
15.	O	237 – 260	1 noda memanjang dan berekor	0,67
16.	P	261 – 269	1 noda memanjang dan berekor	0,65
17.	Q	270 – 279	1 noda memanjang dan berekor	0,5
18.	R	280 – 300	2 noda memanjang dan berekor	0,69 ; 0,51
19.	S	301 – 308	1 noda memanjang dan berekor	0,54
20.	T	309 – 319	1 noda memanjang dan berekor	0,57
21.	U	320 – 341	1 noda berekor	0,59
22.	V	342 – 359	2 noda memanjang dan berekor	0,84 ; 0,6
23.	W	360 – 403	Tak ada noda	-

Berdasarkan pola noda pada masing-masing fraksi kolom kromatografi di atas, fraksi yang dipilih untuk selanjutnya dilakukan pemurnian adalah pada fraksi G. Hal ini didasarakan pada pola nodanya yang sangat sederhana (1 noda) dengan jumlah kristal kotor yang banyak. Kristal kotor fraksi G selanjutnya direkristalisasi dengan pelarut n-heksan secara berulang-ulang. Setelah direkristalisasi, fraksi tersebut dilihat pola nodanya pada KLT yang dimonitor di bawah lampu uv (254 dan 356 nm) dengan menggunakan beberapa perbandingan komposisi eluen seperti pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Uji KLT Senyawa Hasil Isolasi dengan Beberapa Perbandingan Komposisi Eluen.

No.	Eluen	Pola noda	Warna noda pada UV		Rf	
			254 nm	365 nm	254 nm	365 nm
1.	Metanol : Etil asetat (5:5)	1 noda tunggal	Ungu	Biru kehijauan	0,77	0,77
2.	Metanol : Etil asetat (2:8)	1 noda tunggal	Ungu	Biru kehijauan	0,74	0,74
3.	Etil asetat 100%	1 noda tunggal	Ungu	Biru kehijauan	0,82	0,82
4.	Metanol : Etil asetat (6:4)	1 noda tunggal	Ungu	Biru kehijauan	0,62	0,62
5.	Metanol : Etil asetat (7:3)	1 noda tunggal	Ungu	Biru kehijauan	0,53	0,53
6.	Metanol : Etil asetat (8:2)	1 noda tunggal	Ungu	Biru kehijauan	0,53	0,53
7.	Metanol : Etil asetat (9:1)	1 noda tunggal	Ungu	Biru kehijauan	0,52	0,52

Berdasarkan hasil KLT menggunakan beberapa perbandingan komposisi eluen memperlihatkan noda tunggal berwarna biru kehijauan dibawah lampu UV  $\lambda$  365 nm dan berwarna ungu di bawah lampu UV  $\lambda$  254 nm.

## **4.2.3 Karakterisasi Senyawa Triterpenoid**

### **4.2.3.1 Uji Fitokimia**

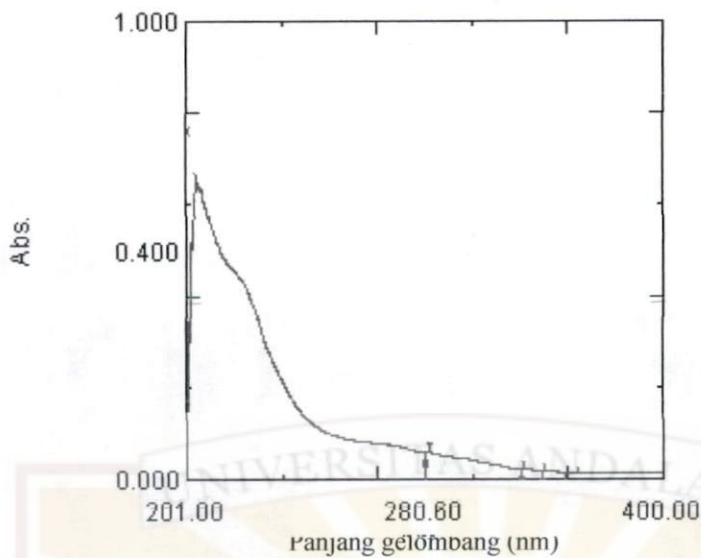
Untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder hasil isolasi, pemeriksaan menggunakan pereaksi warna . Pereaksi warna yang digunakan yaitu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan anhidrida asetat (1:1) memperlihatkan warna merah bata keunguan yang mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan triterpenoid.<sup>10,11,12,13</sup>

### **4.2.3.2 Karakterisasi Fisika**

Untuk melihat daya kelarutan senyawa hasil isolasi, dilakukan pelarutan terhadap senyawa hasil isolasi pada tiga jenis pelarut yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol. Dari ketiga jenis pelarut tersebut, senyawa hasil isolasi tidak larut dalam pelarut n-heksan tetapi larut baik dalam pelarut etil asetat dan metanol. Untuk menganalisa kemurnian lebih lanjut dari senyawa hasil isolasi, dilakukan pengukuran titik leleh terhadap senyawa hasil isolasi. Suatu senyawa telah dapat dikatakan murni apabila memiliki jarak titik leleh 1-2 °C. Pada pengukuran titik leleh senyawa hasil isolasi, diperoleh jarak titik leleh 118,8 – 120,6 °C. Berdasarkan jarak titik leleh yang memberikan jarak titik leleh yang cukup pendek (1,8 °C), mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi berupa senyawa tunggal yang telah murni.

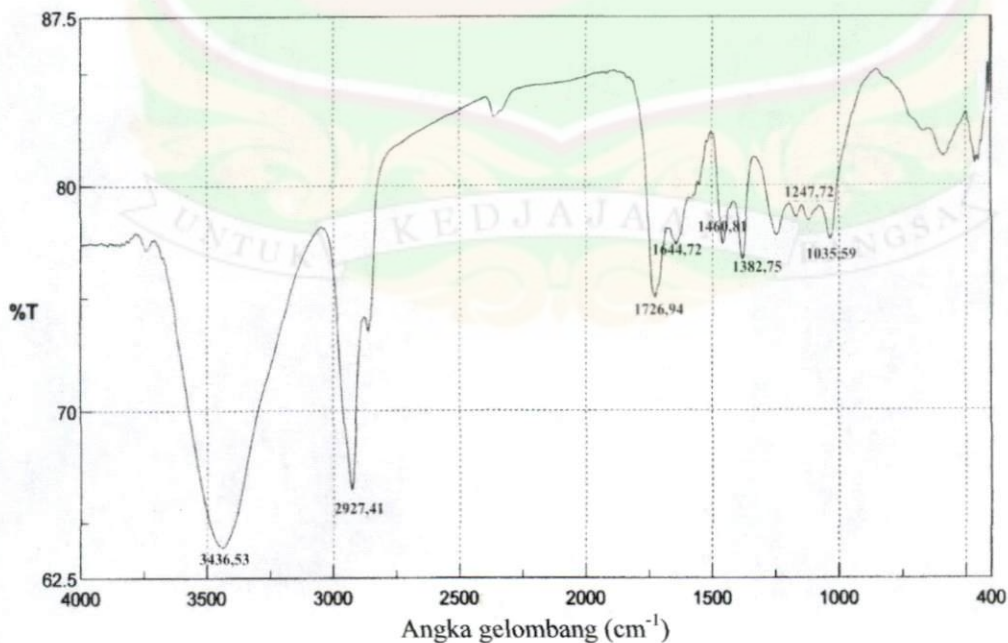
### **4.2.3.3 Karakterisasi Kimia**

Untuk karakterisasi kimia dari senyawa hasil isolasi, dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama yaitu melalui pengukuran menggunakan spektrum Ultra Violet (UV) dalam metanol. Penggunaan metanol sebagai pelarut dalam pengukuran spektrum UV ini dikarenakan senyawa hasil isolasi larut baik dalam metanol. Dari spektrum UV, senyawa hasil isolasi dalam pelarut metanol menunjukkan adanya serapan maksimum pada 205,80 nm berupa puncak. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Pola spektrum UV senyawa hasil isolasi

Berdasarkan pada spektrum UV di atas, dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi tidak memiliki ikatan rangkap yang berkonyugasi. Hal ini karena serapan maksimum yang dihasilkan pada panjang gelombang 205,80 nm yang menunjukkan bahwa senyawa hanya mempunyai transisi  $n \rightarrow \pi^*$  (tidak berkonyugasi), karena pada struktur triterpenoid tidak memiliki ikatan rangkap yang berkonjugasi. Beberapa analisa spektrum UV tentang senyawa triterpenoid juga menjelaskan bahwa serapan maksimum untuk senyawa triterpenoid muncul pada panjang gelombang 200 nm.<sup>13,14,15,16</sup>



**Gambar 9.** Spektrum IR dari senyawa hasil isolasi.

Spektrum IR (Gambar 9) senyawa hasil isolasi memberikan informasi beberapa pita serapan penting, yaitu adanya pita serapan - OH pada angka gelombang  $3436,53 \text{ cm}^{-1}$  dan diperjelas dengan adanya serapan C-O pada angka gelombang  $1300 - 1000 \text{ cm}^{-1}$  yaitu  $1247,72 \text{ cm}^{-1}$ , sedangkan pada angka gelombang  $1035,59 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi rentangan C-O alkohol. Gugus fungsi C=O muncul pada serapan  $1726,94 \text{ cm}^{-1}$ . Adanya C-H alifatis ditunjukkan pada angka gelombang  $1460,81$  dan  $1381,75 \text{ cm}^{-1}$  (geminal dimetil) yang diperkuat oleh serapan pada angka gelombang  $2927,41 \text{ cm}^{-1}$ . Serapan pada angka gelombang  $1644,72 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya serapan dari C=C. Berdasarkan informasi yang diperoleh dari spektrum IR, dapat diindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan triterpenoid. Hal ini diperkuat dengan adanya serapan pada angka gelombang  $1381,75 \text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan gugus fungsi geminal dimetil yang spesifik untuk senyawa triterpenoid<sup>13,14,15,16</sup>

Dari hasil uji dengan pereaksi LB menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa metabolit sekunder jenis triterpenoid yang memiliki gugus fungsi C=O, -OH, dan C=C namun belum bisa diketahui posisi daripada masing-masing gugus fungsi tersebut.

#### **4.3 Uji Aktivitas Antibakteri dari Senyawa Murni Hasil Isolasi dengan Metoda Cakram.**

Senyawa triterpenoid murni diuji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan metoda kertas cakram dan jenis bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Senyawa triterpenoid dilarutkan dalam etanol dengan konsentrasi 1000 ppm (0,0005 g senyawa dalam 5 mL etanol) dan kertas cakram direndam ke dalam larutan ekstrak senyawa tersebut. Medium pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah Nutrient Agar (NA), dimana 1,25 g NA dilarutkan dalam 50 mL akuades yang dihomogenkan dengan bantuan *magnetic stirrer*. Medium cair tersebut dituangkan 5 mL ke dalam masing-masing cawan petridis dan dibiarkan mengeras, setelah medium mengeras kemudian dituangkan larutan bakteri uji ke dalam cawan petridis berisi medium yang telah mengeras dan selanjutnya dibiarkan mengeras. Kertas cakram yang telah direndam pada ekstrak senyawa diletakkan pada permukaan medium yang telah dituangkan bakteri uji pada masing-masing cawan petridis. Untuk melihat

zona bening yang terbentuk, dilakukan pengamatan setelah 1x24 jam setelah perlakuan uji anti bakteri. Hasil pengamatan zona bening selanjutnya ditentukan nilai mikrobial indeks seperti yang ditunjukkan pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Uji Antibakteri pada Senyawa Hasil Isolasi konsentrasi 1000 ppm

No.	Jenis bakteri	Pengamatan	
		Mikrobial indeks (cm/cm)	
		1	2
1.	<i>S. aureus</i>	0,67	0,67
2.	<i>E. coli</i>	1,67	1,83

Berdasarkan hasil pengamatan zona bening pada senyawa murni hasil isolasi di atas, dapat disimpulkan bahwa senyawa triterpenoid murni hasil isolasi dapat menghambat aktivitas jenis bakteri gram positif dan negatif pada konsentrasi 1000 ppm.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

1. Hasil isolasi merupakan senyawa golongan triterpenoid yang memberikan warna merah bata keunguan setelah dilakukan uji Liebermann Burchard, memiliki titik leleh 118,8 – 120,6 °C serta memiliki gugus fungsi –OH, C=O, C=C, dan -CH.
2. Senyawa triterpenoid hasil isolasi memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* dengan nilai mikrobial indeks berturut-turut 1,75 dan 0,67.

#### 5.2. Saran

1. Untuk karakterisasi lebih sempurna terhadap senyawa hasil isolasi sebaiknya dilakukan pengukuran terhadap Spektroskopi Massa, spektroskopi <sup>1</sup>H-NMR, dan <sup>13</sup>C-NMR.
2. Agar dapat dilakukan uji aktifitas terhadap hasil isolasi berupa pengujian fisiologi dan farmakologi lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kusdianti, Sheba L, Nilawati TS. 2008. *Tumbuhan Obat di Legok Jero Situ Lembang*. Bogor : Penggalang Taksonomi Tumbuhan Indonesia (PTTI)
2. Wong, Wilson. 2008. *Melastoma Malabathricum : Too Beautiful to be Called a Weed*. Singapore : Green Culture Singapore Feature Article
3. S. Mohd. Jofrry. 2011. *Melastoma malabathricum (L.) Smith Ethnomedicinal Uses, Chemical Constituents and Pharmacological Properties: A Review*. Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, University Teknologi MARA, Puncak Alam Campus, 42300 Bandar Puncak Alam, Selangor, Malaysia.
4. Harbone, J. B., 1987, *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisis Tanaman*, Jilid 2, a.b. Padmawinata, K. Penerbit ITB, Bandung.
5. Simajuntak, Megawati R. 2008. *Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Ekstrak Daun Tumbuhan Senduduk (Melastoma Malabathricum L.) Serta Pengujian Efek Sediaan Krim Terhadap Penyembuhan Luka Bakar*. Medan : Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara
6. Bano, Sameena. 2009. *Chemistry of Natural Products: Terpenoids*. New Delhi : Department of Chemistry Faculty of Science Jamia Hamdard
7. Ultee A, Gorris LGM, Smid EJ. 1998. *Bacterial activity of carvacrol toward the food-borne pathogen Bacillus cereus*. J. Appl. Microbiol: 213-218.
8. Corner, DE. 1995. *Naturally occurring compounds in Antimicrobial in Food*. Eds., by Davidson PM & Branen AL, Eds. Marcell Dekker, Inc., New York, pp. 441-468.
9. Enrique, Gloria. L., *Laboratory Manual in General Microbiology*, University of the Philippines Press, 1995. Hal 53-55
10. Rita, Wiwik Susannah. *Isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid pada rimpang temu putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe.)*. JURNAL KIMIA 4 (1), JANUARI 2010 : 20-26
11. Jeremiah E. Angeh. 2007. *Novel antibacterial triterpenoid from Combretum padoides (Combretaceae)*. Phytomedicine Programme, Department of

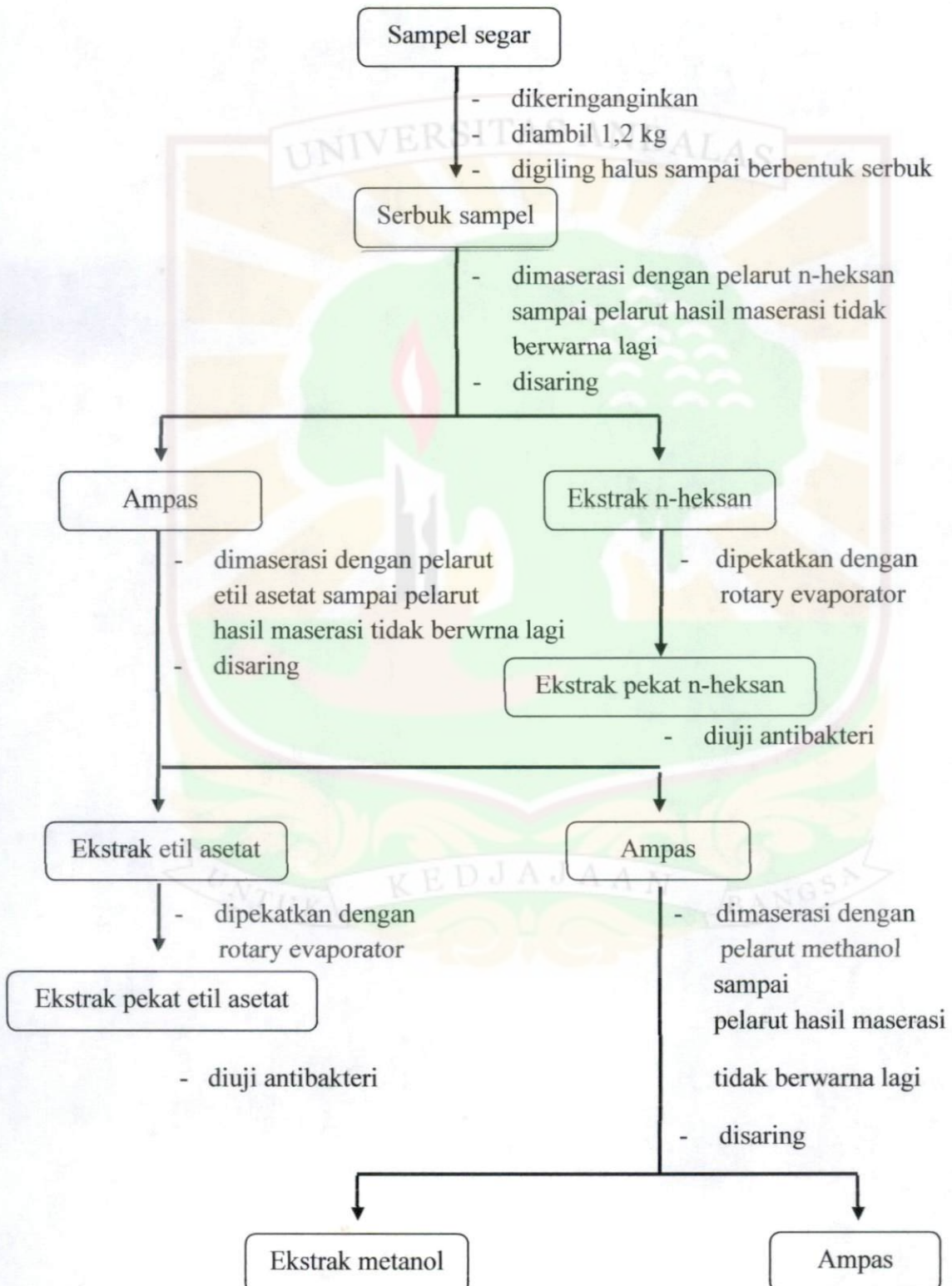
Paraclinical Science, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Onderstepoort, South Africa, Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology, Beutenbergstrasse 11a, D-07745 Jena, Germany

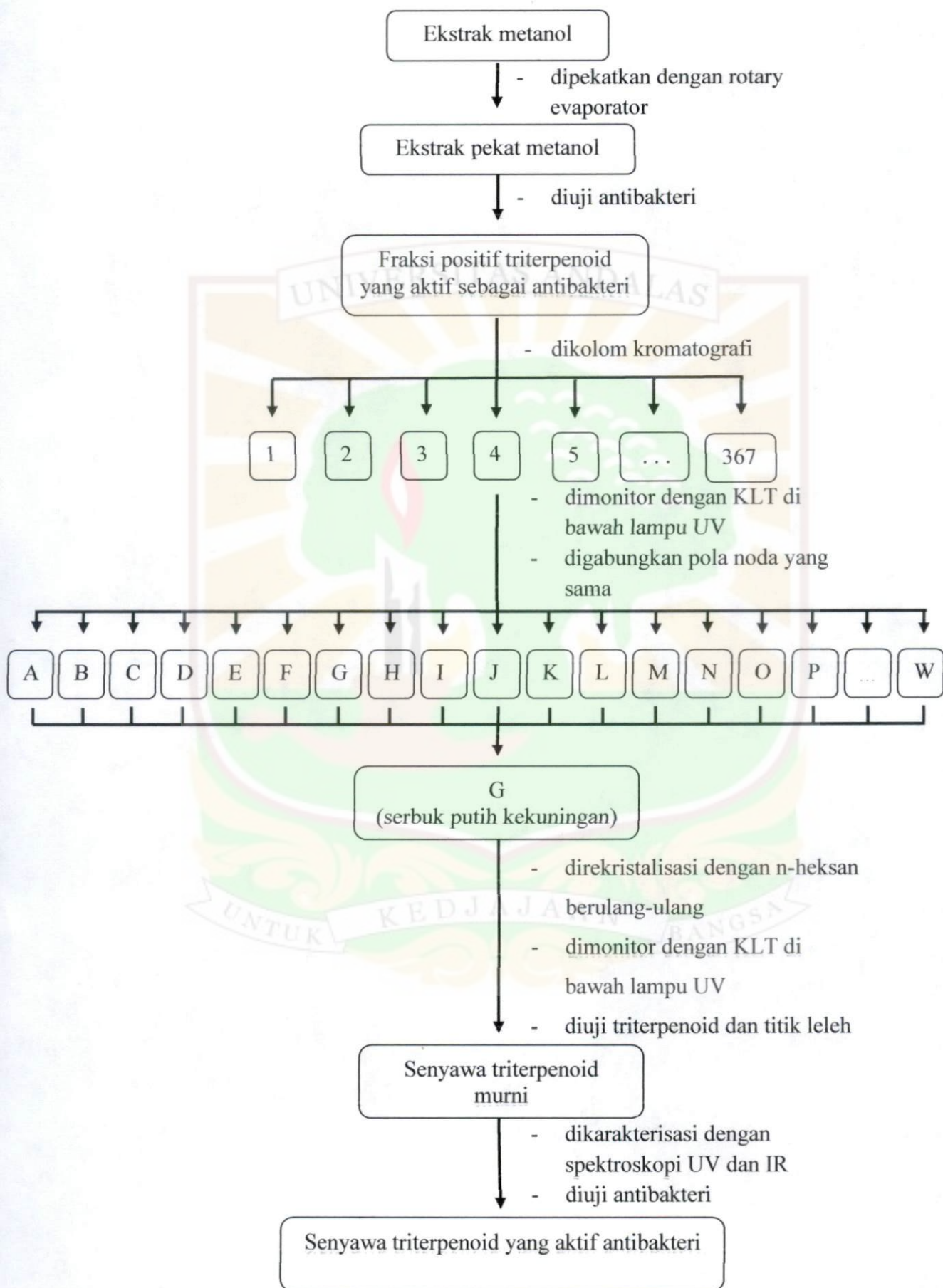
12. Sahu, Sachi. *New Terpenoid From The Rhizomes Of Cyperus Scariosus*. International Journal of Chemical Engineering and Applications, Vol. 1, No. 1, June 2010
13. Patnaik T, Deey RK and Gouda P. *Isolation of Triterpenoid Glycoside from Bark of Terminalia arjuna using Chromatographic Technique and Investigation of Pharmacological Behavior upon Muscle Tissues*. E-Journal of Chemistry Vol. 4, No. 4, pp. 474-479, October 2007
14. Okwu, D. Ebere dan Uchegbu, Rosemary. *Isolasi, Karakterisasi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Metoksiamin tetrahidroksiamin dari Kulit Batang Detarium Senegalense Gmelin*. African Journal of Pure and Applied Chemistry Vol. 3 (1), pp. 001-005, January, 2009
15. Silverstin, Bassler and Morrill. 1981. *Identification of Organic Coumpound*, Fourth edition. Singapore
16. Creswell, C. J. et.al., *Analisis Spektrum Senyawa Organik*, Terjemahan K. Padmawita dan Iwang, ITB, Bandung, 1982, 26-72.



## Lampiran 1

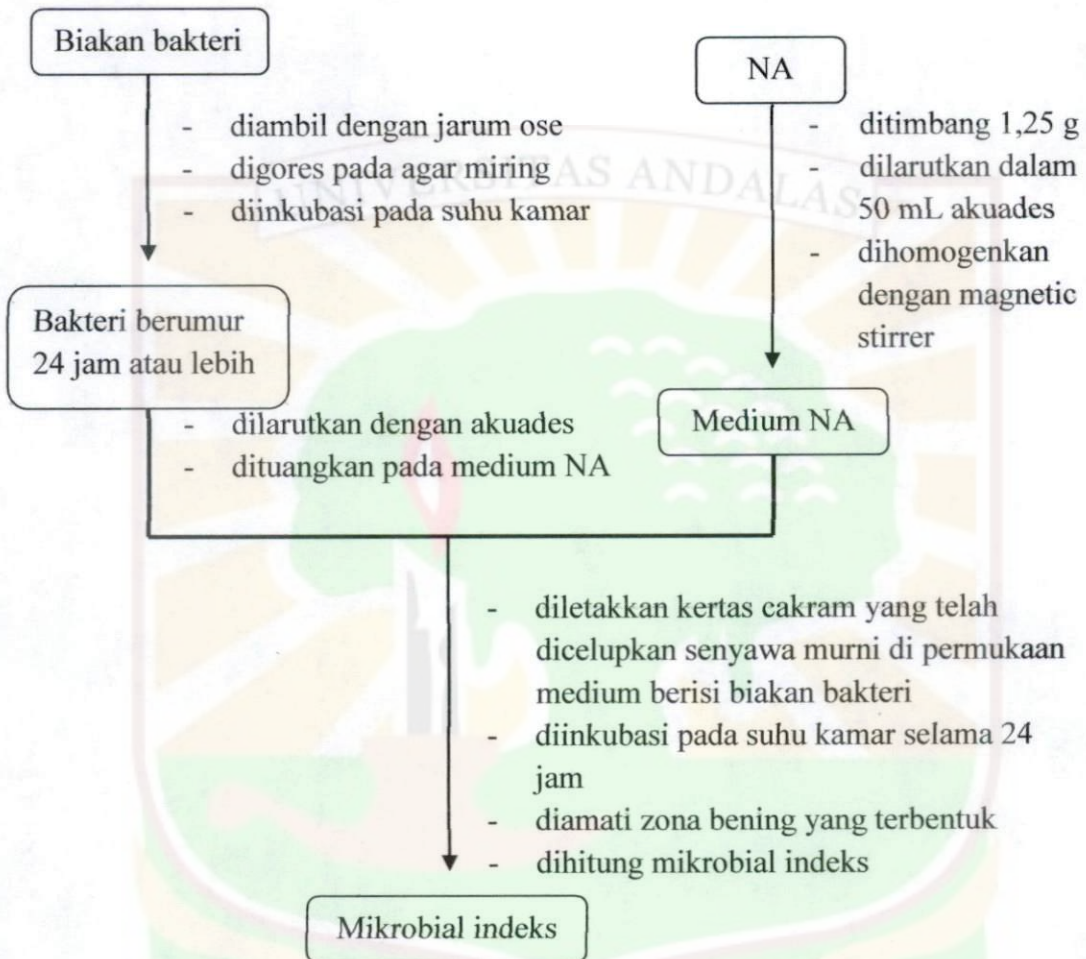
### SKEMA KERJA ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID DARI FRAKSI AKTIF ANTIBAKTERI PADA BUAH TANAMAN SENDUDUK (*Melastoma malabathricum* L.)





## Lampiran 2

### SKEMA KERJA AKTIVITAS ANTIBAKTERI DENGAN METODA CAKRAM



**Lampiran 3**

**GAMBAR PENGUJIAN ANTIBAKTERI PADA MASING-MASING FRAKSI (pengamatan setelah 24 jam)**

**a. *E. coli***



Fraksi metanol



Fraksi etil asetat



Fraksi n-heksan

b. *S. aureus*



Fraksi metanol



Fraksi etil asetat

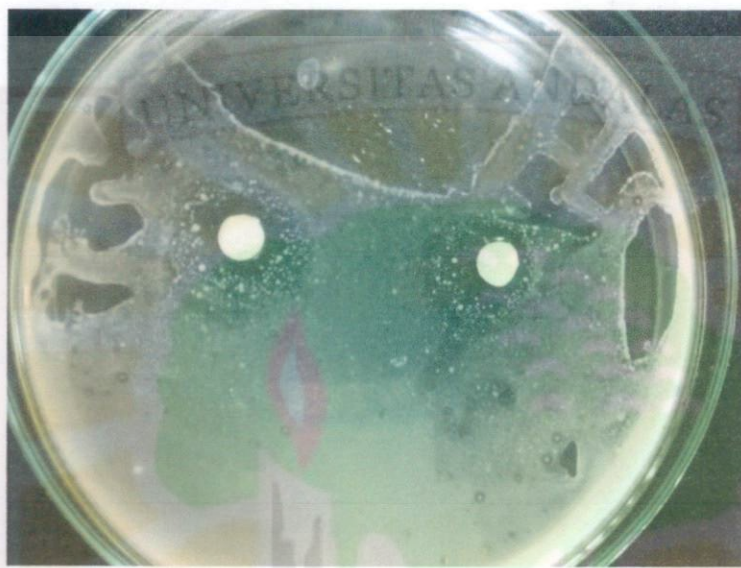


Fraksi n-heksan



Lampiran 4

GAMBAR PENGUJIAN ANTIBAKTERI PADA TRITERPENOID HASIL ISOLASI (pengamatan setelah 24 jam)



*E. coli*



*S. aureus*