

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA
ANTIMIKROBA DARI *Elephantopus mollis* Kunth**

TESIS

Oleh :

**VERAWATI
06213002**



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
2009**



ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ANTIMIKROBA DARI

Elephantopus mollis Kunth

Oleh : VERAWATI

(Di bawah bimbingan Amri Bakhtiar dan Deddi Prima Putra)

RINGKASAN

Genus *Elephantopus* dari Famili Asteraceae termasuk tumbuhan obat dan dua jenis diantaranya yaitu *Elephantopus scaber* Linn. dan *Elephantopus mollis* Kunth merupakan tumbuhan endemik di Sumatera Barat. *E. scaber* secara tradisional digunakan masyarakat untuk mengobati berbagai jenis penyakit infeksi dan telah ada monografinya di beberapa literatur resmi tumbuhan obat Indonesia. *E. mollis* sendiri ternyata belum tercantum di dalam literatur resmi Indonesia.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi aktivitas antimikroba *E. mollis* dan dibandingkan dengan *E. scaber* sebagai tumbuhan referensi. Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Trycophyton mentagrophytes* (ATCC 5431) dan *Candida albicans* (ATCC 10231). Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kontrol positif kloramfenikol 0,3 % untuk bakteri dan klotrimazol 1% untuk jamur.

Hasil pemeriksaan aktivitas antimikroba terhadap ekstrak metanol dari daun dan akar *E. mollis* dan *E. scaber* pada konsentrasi sampel 100 mg/ml menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$) antara aktivitas bagian

daun dengan akar, dimana daun lebih baik aktivitas antimikrobanya. Aktivitas paling baik diberikan oleh daun *E. mollis* dengan nilai rata-rata diameter hambatan yang paling besar terhadap seluruh mikroba uji sebesar $14,83 \pm 3,43$ mm dan didukung dengan rata-rata konsentrasi hambat minimum (KHM) paling rendah yaitu $15,83 \pm 16,86$.

Pemeriksaan aktivitas antimikroba pada fraksi-fraksi dari ekstrak daun *E. mollis* pada konsentrasi 100 mg/ml banya fraksi heksan dan etil asetat yang aktif terhadap bakteri maupun jamur sedangkan fraksi butanol dan fraksi sisa tidak aktif. Berdasarkan analisis ANOVA dua arah yang dilanjutkan dengan uji Duncan memperlihatkan bahwa fraksi heksan mempunyai aktivitas yang besar dan tidak ada perbedaan dengan kontrol positif bakteri dan berbeda nyata pada aras $p < 0,05$ dengan kontrol positif jamur. Rata-rata aktivitas antimikroba fraksi heksan adalah sebesar $19,67 \pm 2,66$ mm dan rata-rata KHM-nya sebesar $6,67 \pm 2,58$.

Isolasi senyawa aktif antimikroba dari fraksi heksan dengan metoda kromatografi kolom vakum dan kromatografi normal serta kromatografi radial dilanjutkan dengan preparatif diperoleh VI4Bc1 sebanyak 74 mg dengan titik leleh $89-102^{\circ}\text{C}$ berbentuk amorf putih kekuningan. Aktivitas antimikroba VI4Bc1 pada konsentrasi 10 mg/ml yang memberikan diameter daerah bening rata-rata sebesar $19,33 \pm 4,80$ mm. Berdasarkan analisis ANOVA dua arah yang dilanjutkan uji Duncan memperlihatkan adanya perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$) antara aktivitas VI4Bc1 dengan kontrol positif terhadap bakteri sedangkan terhadap jamur tidak ada perbedaan.

Karakterisasi VI4Bc1 melalui spektrum UV-Vis memberikan serapan maksimum pada λ 206,20 nm. Data dari spektrum inframerah dari VI4Bc1

mengindikasikan adanya regang C-H (2923 cm^{-1}), regang $>\text{C}=\text{O}$ (1769 cm^{-1}), regang $\text{C}=\text{C}$ (1617 cm^{-1}) dan regang $>\text{C}=\text{C}<$ (1655 cm^{-1}). Reaksi VI4Bc1 dengan vanilin sulfat memberikan warna merah yang berarti senyawa ini termasuk ke dalam golongan terpenoid.

Data ^1H -RMI senyawa utama dari VI4Bc1 dalam CDCl_3 menunjukkan adanya 22 proton antara lain δH 1,73 (3H); 1,77 (Hz, 3H); 1,97 (3H); 3,14 (1H); 3,20 (3H); 4,64 (1H); 5,23 (2H); 5,47 (1H); 5,78 (1H); 5,62 (1H); 5,69 (1H), 6,15 (1H); 6,31 (1H). Data spektrum ^{13}C -RMI menunjukkan adanya 19 atom C yang antara lain 4 buah C primer (δc 13,4; δc 18,6; δc 28,8 dan δc 49,8), 2 buah atom C sekunder (δc 126,7 dan δc 127,4), 3 buah atom C tersier (δc 39,0; δc 127,2 dan δc 129,1) 4 atom C kuarternar (δc 133,9; δc 135,1; δc 136,2 dan δc 139,2) dan 2 atom C karbonil (δc 165,8 dan δc 169,1). Analisis spektrometer RMI ini juga didukung oleh data 2 dimensi yaitu *Heteronuclear Multiple Quantum Coherence* (HMQC), *Correlated Spectroscopy* (COSY) dan *Heteronuclear Multiple Bond Correlation* (HMBC).

Pada pemeriksaan massa VI4Bc1, dilakukan dengan LC-MS ternyata pada kromatogram LC menunjukkan bahwa VI4Bc1 merupakan campuran 2 senyawa utama (4 : 3), walaupun pada pemeriksaan KLT telah menunjukkan satu noda pada R_f 0,52 dengan fasa diam silika gel dan fasa gerak heksan - EtOAc (5 : 1).

Penentuan golongan senyawa utama dalam VI4Bc1 melalui data analisis ^1H -RMI, ^{13}C -RMI dan spektrum massa serta merujuk kepada senyawa referensi *Andoga* salah satu senyawa aktif antimikroba dari fraksi heksan daun *E. mollis* adalah golongan sesquiterpen lakton dengan rumus molekul $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_6$.

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu jenis penyakit yang prevalensinya masih tinggi di Indonesia. Penyebabnya karena berbagai faktor seperti sistem sanitasi yang belum memadai, pengelolaan sampah yang belum bagus, tingkat pendapatan penduduk yang masih rendah sehingga kemampuan untuk memperoleh pengobatan modern juga rendah. Selain itu penggunaan antibiotika yang tidak rasional menyebabkan terjadinya resistensi sehingga mengurangi jumlah antibiotika efektif.

Di lain pihak secara tradisional masyarakat telah memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat untuk pengobatan penyakit infeksi. Tanaman obat tradisional ini mungkin bisa menjadi alternatif untuk pengobatan penyakit infeksi yang tidak terlalu berat. Juga bisa sebagai sumber antibiotik baru karena saat ini telah banyak mikroba patogen yang resisten terhadap sejumlah antibiotik yang beredar.

Penelitian terhadap aktivitas antimikroba dari tanaman tingkat tinggi telah banyak dilakukan. Sebagai contoh adanya aktivitas bakteriostatik dan antifungi dari allinin dalam *Allium sativum*, berberin dalam *goldenseal (Hydratis canadensis)* dan emetin dari *Cephaelis ipecacuanha* yang digunakan sebagai amubisida. Masih banyak penelitian lain mengenai aktivitas antimikroba dari tanaman. Kembalinya antusiasme masyarakat dunia terhadap bahan alam merupakan salah satu faktor semakin banyaknya penelitian terhadap tanaman obat. Tanaman berkhasiat antimikroba termasuk jenis yang paling laris dalam

pasaran obat-obat herbal . Contohnya, *Hydrastis* menempati *top selling* di pasaran herbal US (Iwu, 1999).

Salah satu kelompok tanaman lain yang digunakan sebagai antimikroba adalah dari genus *Elephantopus*. Contohnya adalah *Elephantopus scaber* Linn dengan nama nama daerah tutup bumi. Secara tradisional *E. scaber* dimanfaatkan untuk obat diare, keputihan, infeksi saluran kencing, abses dan borok. Selain itu, seluruh bagian tumbuhan digunakan untuk mengobati batuk, sariawan, cacangan, demam, epistaksis (hidung berdarah), sakit kuning, cacar air, busung, gigitan ular, gigitan serangga, serta bermanfaat sebagai apodisiak (Avani, 2005).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap tumbuhan ini menunjukkan bahwa *E. scaber* memiliki aktivitas hepatoprotektif, antivirus , aktif terhadap *brine shrimp lethality bioassay* , serta memberikan efek diuretik, analgesik dan antiinflamasi. Selain itu *E. scaber* juga mengandung senyawa aktif deoksielefantopin yang aktif sebagai antitumor (Wang, 2004).

Selain *E. scaber*, ada spesies lain dari *Elephantopus* yaitu *Elephantopus mollis* Kunth. *E. mollis* juga digunakan untuk mengatasi inflamasi, demam, batuk dan sebagai diuretik. *E. mollis* juga menghasilkan senyawa dengan aktivitas antitumor yaitu molefantin, molefantinin dan fantomolin (Lee, 1973).

Dari penelusuran literatur, penelitian mengenai aktivitas antimikroba dari kedua tanaman dari genus *Elephantopus* ini masih terbatas informasinya sehingga perlu dibuktikan lebih lanjut secara ilmiah. Data ilmiah dari penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan tanaman obat tradisional menjadi suatu obat herbal yang terstandarisasi.

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar dan mikroba ujinya adalah *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), dan *Escherichia coli* (ATCC 8739), serta jamur yaitu *Candida albicans* (ATCC 10231) dan *Trichophyton mentagraphytes* (ATCC 5431). Tahapan untuk mengisolasi senyawa aktif antimikroba adalah dengan metode kromatografi yang setiap langkahnya dimonitor dengan KLT dan aktivitas antimikroba. Karakterisasi senyawa antibakteri hasil isolasi dilakukan secara organoleptis, pemeriksaan sifat fisika, reaksi kimia, serta sifat fisikokimia menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer inframerah (IR) dan spektrometer ^1H RMI, ^{13}C RMI dan spektrometer Massa.

1.2. Rumusan Masalah

E. mollis termasuk tumbuhan endemik seperti *E. scaber* namun belum ada penelitian mengenai aktivitas antimikroba dan senyawa yang berperan sedangkan yang baru ada dalam monografi hanya *E. scaber*.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini mempunyai tujuan :

1. Menentukan aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi dari daun dan akar *E. mollis* dan menggunakan *E. scaber* sebagai tumbuhan referensi.
2. Mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa aktif antimikroba pada *E. mollis*.

1.4. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi potensi antimikroba dari tanaman *E. mollis* dan senyawa yang terkandung di dalamnya serta kemungkinan dikembangkan sebagai obat penyakit infeksi.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Uji aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa daun *E. mollis* memberikan aktivitas terbesar.
2. Dari 20 gram fraksi heksan daun *E. mollis* diperoleh campuran VI4Bc1 sebanyak 74 mg berbentuk amorf, putih kekuningan.
3. VI4Bc1 aktif terhadap semua mikroba uji dengan KHM 0,5 mg/ml terhadap *P. aeruginosa*, 1 mg/ml terhadap *S. aureus*, *S. epidermidis*, 2,5 mg/ml terhadap *E. coli* dan <0,5 mg/mL terhadap *T. mentagrophytes* dan *C. albicans*.
4. Dari data spektrum UV, IR, ¹H-RMI, ¹³C-RMI diduga VI4Bc1 mengandung senyawa A yang merupakan golongan sesquiterpen lakton dengan rumus molekul C₁₉H₂₂O₆ dan berat molekul 346,33

5.2. Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk mengisolasi senyawa antimikroba dari *E. mollis* dengan menggunakan metode yang lebih tepat dan melakukan aplikasi terhadap aktivitas antimikroba seperti pembuatan formula antimikroba dari daun *E. mollis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Avani, K. dan S. Neeta. 2005. A Study of the Antimicrobial Activity of *Elephantopus scaber*. Indian J. of Pharmacology. Vol. 23. Issue 2. P. 126-128.
- Backer, C.A., dan R.C. Bakhuizen. 1965. Flora of Java (Spermatophytes only). Vol II. N.V.P. Noordhoff. Netherland.
- Berghe, D. A. V. and A. J. Vlietinck. 1991. Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from Higher Plants, in Hostettmann (Ed). A Methods in Plant Biochemistry. 6. p. 47-68.
- Betina, V., 1973. Bioautography in Paper and Thin Layer Chromatografi and Its Scope in The antibiotic Field. J. Chromatography. p. 31-34.
- Burkill, I.H. A Dictionary of The Economic Products of the Malay Peninsula. Vol I (A-H), Ministry of Agriculture and Co-operatives. Kuala Lumpur, Malaysia 1966.
- Carpino, S., Sesquiterpene lactones and their toxicity to livestock. Cornell University
- Cowan, M.M.1999. Plant Product as Microbial Agent. Clinical Microbiology Review. p. 564-582.
- Crotti, A.E., dkk, 2005. Sesquiterpene Lactones from *Minasia alpestris*, J. Braz. Chem. Soc. Vol 16. No 3B. p. 677-680.
- Culvenor, C.C.J. and J.S. Fitzgerald, 1963. A Field method for Alkaloid Screening of Plant. J. Pharm Sci. 52. p. 303-4.
- Dalimartha, S., 2003. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid 3. Puspa Swara. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1978. Materia Medika Indonesia. Jilid II. Penerbit : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1980, Materia Medika Indonesia. Jilid IV. Penerbit : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Dewick, P.M., 2001. Medicinal Natural Products : A Biosynthetic Approach, Second Edition. John Wiley and Sons. England.
- Dwidjoseputro, D., 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan, Jakarta.