

ISOLASI SENYAWA KUMARIN DARI KULIT BATANG KECAPI (*Sandoricum koetjape*) SEBAGAI ANTIBAKTERI

¹Febria Elvy Susanti, ¹Mai Efdi, ¹Afrizal

¹Laboratorium KimiaBahanAlam, JurusanKimia FMIPA, UniversitasAndalas

Email: maiefdi@yahoo.com

ABSTRACT

Isolation coumarin compounds have been carried from the bark of the plant harp (Sandoricumkoetjape). Powdered bark kecap extracted with the method of maceration using hexane, ethyl acetate and methanol. Purification of the extract by column chromatography and compound identification conducted by IR spectroscopy. Test of antibacterial activity of the extract is done by disc diffusion method. The result showed antibacterial activity the ethyl acetate extract was more active than the extract hexane and methanolwith inhibitory area 19 mm (Escherichia coli) and 12 mm (Staphylococcus aureus). Isolated compounds in the form of white needle crystals obtained from the ethyl acetate extract with a melting point of 194°C - 195°C. IR spectroscopy data shows this compound has funtional groups hydroxyl.

Keywords : *Kumarin, Sandoricum koetjape, antibacterial*

ABSTRAK

Isolasi senyawa kumarin telah dilakukan dari kulit batang tumbuhan kecap (Sandoricumkoetjape). Serbuk kulit batang kecap diekstrak dengan metoda maserasi menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol. Pemurnian ekstrak dengan kromatografi kolom dan identifikasi senyawa dilakukan dengan spektroskopi IR. Uji aktifitas antibakteri terhadap ekstrak dilakukan dengan metoda difusi cakram. Hasilnya menunjukkan aktifitas antibakteri ekstrak etil asetat lebih aktif dibandingkan ekstrak heksana dan metanol dengan daerah hambatnya 19 mm (Escherichia coli) dan 12 mm (Staphylococcus aureus). Senyawa hasil isolasi berupa kristal jarum berwarna putih yang diperoleh dari ekstrak etilasetat dengan titik leleh 194°C - 195°C. Dari data spektroskopi IR menunjukkan senyawa ini memiliki gugus fungsional hidroksil.

Kata kunci : *Kumarin, Sandoricumkoetjape, antibakteri*

Pendahuluan

Kecapi merupakan salah satu jenis tumbuhan yang terdapat di Indonesia yang memiliki aktifitas yang beranekaragam. Daun kecap biasa digunakan untuk obat infeksi kulit, menurunkan panas, diare dan sakit kepala. Bubuk kulit kayu kecap digunakan sebagai obat kurap dan antikanker. Akarnya digunakan sebagai antiseptik, sakit pinggang serta untuk penguat tubuh wanita setelah melahirkan (Nassaret *al.*, 2011). Banyaknya manfaat secara tradisional dari tumbuhan kecap dapat dilakukan uji aktifitas antibakteri menggunakan metoda difusi cakram karena lebih sederhana dan hasil yang didapat cukup teliti untuk mengetahui aktifitas antibakteri.

Bakteri uji yang digunakan adalah gram positif *Staphylococcus aureus* dan gram negatif *Escherichia coli* karena merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia seperti diare dan penyakit saluran pencernaan. Tumbuhan kecap dapat diperbanyak secara vegetatif dengan cara cangkok dan sambung, sedangkan perbanyak generatif dengan menanam biji. Dalam jangka waktu yang lama biji kecap tidak dapat disimpan (Honget *al.*, 1998). Beberapa penelitian tentang fitokimia dan sifat farmakologis dari tumbuhan kecap telah dilaporkan sebelumnya.

Ekstrak kulit batangnya memiliki aktifitas sitotoksik terhadap kanker yang menyebabkan leukemia pada manusia (Efdi *et al.*, 2012). Disamping itu, uji kandungan metabolit sekunder (fitokimia) yang telah dilakukan peneliti sebelumnya bahwa pada kulit batang selain mengandung senyawa triterpenoid juga terdapat flavonoid, fenolik dan kumarin (Aria, 2013). Mengingat masih sedikitnya senyawa kumarin dari kulit batang tumbuhan kecap yang dilaporkan maka dalam penelitian ini dilakukan isolasi senyawa kumarin serta uji aktifitas antibakteri terhadap ekstrak heksana, etil asetat dan metanol.

Metodologi Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk proses isolasi yaitu seperangkat alat destilasi, alat *rotary evaporator* (Heidolph Laborota 4000), oven, spektroskopi inframerah FTIR (Thermo Scientific Nicolet iS10), lampu UV ($\lambda = 254$ dan 356 nm), *melting point* (Stuart SMP10), kolom

kromatografi, neraca analitik, pipa kapiler. Peralatan yang digunakan untuk uji aktifitas antibakteri metode difusi cakram yaitu autoklaf, inkubator, laminar air flow, cawan petri dan beberapa peralatan gelas yang umum digunakan.

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji fitokimia yaitu pereaksi Mayer untuk identifikasi alkaloid, pereaksi *Liebermann Burchard* (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat keluaran PT. BRATACO) untuk identifikasi triterpenoid dan steroid, Sianidin test (bubuk magnesium dan asam klorida pekat keluaran PT. BRATACO) untuk identifikasi flavonoid, besi(III) kloridakeluaran PT. BRATACO untuk identifikasi fenolik, ammonia keluaran PT. BRATACO, natrium hidroksida keluaran PT. BRATACO untuk identifikasi kumarin. Bahan-bahan yang digunakan untuk pengerjaan isolasi adalah kulit batang kecap, heksana, etil asetat dan metanol (ketiganya merupakan pelarut teknis yang telah didistilasi) keluaran PT. BRATACO digunakan sebagai pelarut saat maserasi dan eluen pada kromatografi kolom, akuades, plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis) merek Merck, silika gel 60 (0,063-0,200 mm) (70-230 mesh ASTM) merek Merck, *sphadex* LH20, kertas saring, aluminium voil, kertas saring *Whatman* no. 1 berdiameter 6 mm dan media *Nutrient Agar*. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Prosedur Percobaan

Sebanyak 900 gram serbuk kulit batang kecap direndam dengan menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol. Ekstrak yang didapatkan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak pekat. Selanjutnya, masing-masing ekstrak dilakukan uji antibakteri untuk menentukan ekstrak aktif. Uji aktifitas antibakteri menggunakan metoda difusi cakram. Bakteri yang digunakan adalah bakteri gram negatif *Escherichia coli* dan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*.

Untuk ekstrak ditimbang masing-masing 100 mg dan diencerkan dengan 50 mL pelarut (heksana, etil asetat dan metanol) sehingga didapatkan konsentrasi 2000 mg/L dan dipipet 0,5 mL (2000 mg/L). Kontrol negatif menggunakan pelarut dari masing-masing ekstrak sedangkan kontrol positif digunakan antibiotik amoxilin yang ditimbang 50 mg dan dilarutkan dengan 50 mL aquades sehingga didapatkan konsentrasi 1000 mg/L.

Media *Nutrient Agar* yang telah dituang ke dalam cawan petri dan setelah padat diolesi suspensi bakteri uji. Kertas saring cakram dicelupkan ke dalam masing-masing sampel uji secara

bersamaan selama 20 detik dan diletakkan pada cawan petri tersebut. Uji aktifitas ditentukan setelah 24 jam inkubasi pada 37°C. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh sampel diukur.

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

Sampel 900 gram dimaserasi berkali-kali dengan menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan metanol diperoleh ekstrak pekat heksana 36.75 gram, etil asetat 37.57 gram dan metanol 36.83 gram.

Hasil Uji Aktifitas Antibakteri

Ekstrak heksana, etil asetat dan metanol diuji aktifitas antibakterinya dengan menggunakan metoda difusi cakram. Dari data dapat dilihat aktifitas antibakteri masing-masing ekstrak, dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan percobaan menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktifitas antibakteri yang lebih aktif dibandingkan ekstrak heksana dan metanol. Besarnya daerah hambat pada ekstrak etil asetat disebabkan oleh senyawa kumarin dan senyawa-senyawa aktif lainnya.

Tabel 1. Aktifitas antibakteri dari ekstrak heksana, etil asetat dan metanol

Sampel uji	Ekstrak Heksana		Ekstrak Etil asetat		Ekstrak Metanol	
Bakteri uji	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Kontrol negatif (mm)	8	7	7	9	9	12

Diameter zona hambat (mm)	8	7	12	19	9	14
Kontrol positif (mm)	12	10	12	10	12	10

Pemisahan dan Pemurnian Ekstrak

Ekstrak etil asetat dilakukan pemurnian lebih lanjut dengan metoda kromatografi kolom. Ekstrak ini dipilih karena mempunyai aktifitas antibakteri yang lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Hasil kromatografi kolom didapatkan sebanyak 517 vial dan dilakukan penggabungan fraksi-fraksi berdasarkan pola noda dan R_f yang sama sehingga didapatkan 9 fraksi (A – I).

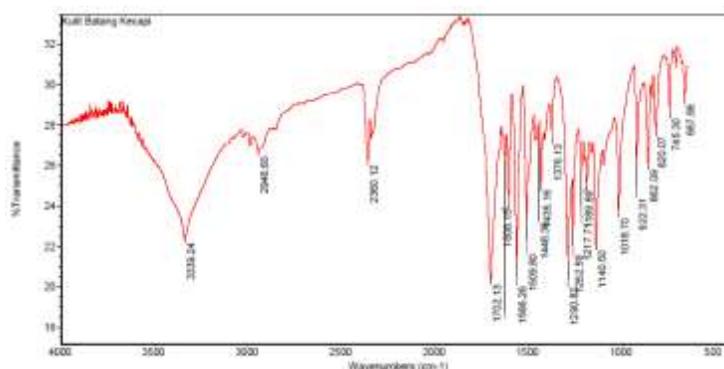
Tabel 2. Hasil uji kemurnian senyawa menggunakan KLT berbagai eluen.

No.	Eluen	Rf
1	Heksana : Etil asetat (2:8)	0,68
2	Heksana : Etil asetat (3:7)	0,70
3	DCM : Etil asetat (7:3)	0,76
4	DCM 100%	0,24

Fraksi H kemudian dilakukan rekromatografi kolom dan dilakukan penggabungan fraksi berdasarkan pola noda R_f yang sama sehingga didapatkan 4 fraksi. Fraksi H.3 diperoleh senyawa murni yang tandai dengan adanya noda tunggal pada plat KLT. Adanya terlihat kontaminan dari hasil *sphadex* LH20 maka dimurnikan kembali dengan menggunakan KLT preparatif. Senyawa murni yang didapatkan tersebut di KLT menggunakan berbagai perbandingan eluen. Hasil KLT beserta nilai R_f -nya dapat dilihat pada Tabel 2.

Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Dari hasil pengujian titik leleh didapatkan titik leleh senyawa ini 194°C - 195°C. Berdasarkan rentang nilai titik leleh < 2 maka dapat diindikasikan senyawa hasil isolasi telah murni. Hasil pengukuran spektroskopi inframerah memperlihatkan beberapa pita serapan yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum Inframerah

Pada spektrum senyawa hasil isolasi yang didapatkan, hasil pengukuran spektroskopi inframerah memperlihatkan beberapa pita serapan penting pada panjang gelombang 3339 cm⁻¹, 2946 cm⁻¹, 1702 cm⁻¹, 1509 cm⁻¹, 1446 cm⁻¹ dan 1018 cm⁻¹. Mengindikasikan beberapa pita serapan penting yaitu pita serapan -OH pada vibrasi regangan di daerah 3339 cm⁻¹ yang didukung oleh pita serapan C-O di daerah 1018 cm⁻¹. Pita serapan C-H aromatik di daerah 2946 cm⁻¹ yang didukung oleh adanya serapan C=C di daerah 1446 cm⁻¹. Inti benzen menyerap di daerah 1509-1446 cm⁻¹. Sedangkan pita serapan C=O karbonil di daerah 1702 cm⁻¹.

Perbandingan Senyawa Hasil Isolasi Dengan Penelitian Sebelumnya

Senyawa hasil isolasi pada penelitian ini berbeda dengan senyawa pada penelitian sebelumnya dengan menggunakan metoda yang sama. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan senyawa hasil isolasi dengan penelitian sebelumnya

No.	Eluen	Rf
-----	-------	----

1	Heksana: DCM (5:5)	0,1
2	Heksana: Etil asetat (5:5)	0,325
3	DCM: Etil asetat (5:5)	0,725
4	DCM: Metanol (5:5)	0,7
5	Etil asetat : Metanol (5:5)	0,725

Dilihat dari nilai *R_f* pada Tabel 3 dapat kita simpulkan bahwa senyawa hasil isolasi pada penelitian ini berbeda dibandingkan dengan senyawa isolasi penelitian sebelumnya. Hal ini juga didukung dengan adanya perbedaan titik leleh dari senyawa. Senyawa hasil isolasi pada penelitian ini adalah 194°C-195°C, sedangkan titik leleh senyawa hasil isolasi pada penelitian sebelumnya adalah terdekomposisi pada suhu 220°C (Abdussalamet *al.* 2011).

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi termasuk golongan kumarin dengan titik leleh 194°C – 195°C. Ekstrak etil asetat memiliki aktifitas antibakteri yang lebih aktif dibandingkan ekstrak heksana dan metanol dengan daerah hambatnya 19 mm (*Escherichia coli*) dan 12 mm (*Staphylococcus aureus*).

Ucapan Terima kasih

Melalui ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam dan semua pihak yang selalu memberi dukungan serta motivasi.

Referensi

Abdussalam, M., 2011, Isolasi dan Karakterisasi Struktur Kumarin Dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kecapi (*Sandoricum Koetjape*) Serta Uji Antioksidan, UNAND.

Aria U. W., 2013, Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Aktif Kulit Batang Kecapi dan Uji Bioaktivitas “Brine Shrimps Lethality Bioassay”, UNAND.

Efdi, M., dan Erma, S., 2012, Sentulic Acid: A Cytotoxic Ring A-seco Triterpenoid from *Sandoricum koetjape* Merr, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, p. 4242-4245.

Hong, T. D., Linnington, S., and Ellis R. H., 1998, Compendium of Information on Seed Storage Behaviour, Royal Botanic Gardens Kew, Vol. 2.

Nassar, Zeyad, Abdalrahim, dan Amin M. S., 2011, The Pharmacological Properties of Terpenoid from *Sandoricum Koetjape*, Journal Medoentral, hal. 1-11.