

IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA TANIN DARI EKSTRAK DAUN TREMBESI (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli* (*E. coli*)

Putu Puspita Sari, Wiwik Susannah Rita, dan Ni Made Puspawati

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali

Email : puspita_artha@yahoo.co.id

ABSTRAK

Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) serta uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (*E. coli*) telah dilakukan dalam penelitian ini berdasarkan pemanfaatan dari daun trembesi sebagai obat diare. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi dan partisi, pemisahan dengan KLT preparatif, uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumur agar, dan identifikasi dilakukan dengan spektrofotometer UV-vis dan FTIR. Maserasi dengan etanol menghasilkan 36,80 g ekstrak pekat etanol. Proses partisi menghasilkan fraksi n-heksana, kloroform, aseton, dan air. Uji fitokimia masing-masing fraksi menunjukkan bahwa fraksi air dan aseton memberikan hasil positif mengandung senyawa tannin terhidrolisis, namun fraksi aseton menunjukkan hasil dengan konsentrasi lebih banyak dibandingkan fraksi air. Hasil uji aktivitas antibakteri *E. coli* terhadap fraksi aseton menunjukkan aktivitas sedang. Pemisahan dengan eluen n-butanol: asam asetat: air (4:1:5) (BAA) diperoleh enam isolat namun hanya dua isolat (isolat 2 dengan Rf 0,61, dan isolat 3 dengan Rf.0.65) yang memberikan positif mengandung tannin. Hasil uji kemurnian isolat 2 dan 3 menunjukkan relatif murni secara KLT. Isolat 2 dan 3 menunjukkan aktivitas antibakteri *E. coli* yang lebih lemah dibandingkan dengan fraksi aseton. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan isolat 2 dan 3 memberikan dua puncak yang sama dengan serapan maksimum pada panjang gelombang 346.50 nm dan 347,00 nm karena transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$ yang menunjukkan adanya kromofor C=O dan C=C. Sementara spektrum inframerah isolat 2 dan 3 menunjukkan puncak yang sesuai dengan gugus fungsi karakteristik tannin yaitu -O-H, C-H alifatik, C=O ester, C=C aromatik, C-O-H, dan C-O-C eter.

Kata kunci : *Samanea saman* (Jacq.) Merr, tanin, antibakteri, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Isolation and identification of tannin compounds from trembesi leaves (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) and its anti-bacterial activity test against *Escherichia coli* (*E. coli*) have been done in this research based on the utilization of trembesi leaves to treat diarrhea. Extraction was done by maceration and partition, separation by preparative TLC. The anti-bacterial activity was tested using wells that diffusion method, and the identification of the compounds was done with UV-vis spectrophotometer and FTIR. Maceration with ethanol produced 36.80 g crude ethanol extract. Phytochemical test showed that acetone and water fractions gave positive result for hydrolyzed tannin compounds but acetone fraction revealed more concentrated than water fraction. Anti-bacterial test result showed that the acetone fraction was active towards *E. coli* with medium activity. Separation of the eluent n-butanol: acetic acid: water (4:1:5) (BAA) gave six isolates but only two isolates (isolate 2 with Rf 0.61, and isolates 3 with Rf.0.65) gave positive results for tannin. These two isolates were relatively pure on TLC purity test and showed weaker anti-bacterial activity compared to the acetone fractions. Identification using UV-Vis spectrophotometer showed that isolates 2 and 3 gave two similar peaks with maximum absorbance at 346.50 nm and 347.00 nm respectively due to $n \rightarrow \pi^*$ and $\pi \rightarrow \pi^*$ electron transitions, which indicated the presence of C=O and C=C chromophores. Infrared spectra of isolates 2 and 3 revealed peaks that correspond to characteristic functional groups of tannin including -O-H, C-H aliphatic, C=O ester, C=C aromatic, C-O-H, and C-O-C ether.

Keywords : *Samaneasaman* (Jacq.) Merr, tannin, antibacterial, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Berbagai macam tanaman telah banyak digunakan sebagai antibakteri. Antibakteri adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat digunakan untuk kepentingan pengobatan infeksi pada manusia, hewan, dan tumbuhan serta dapat mengobati berbagai gangguan kesehatan yang disebabkan oleh bakteri (Goldberg, 1959). Gangguan kesehatan pada manusia salah satunya dapat disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) yang keberadaannya banyak tersebar di alam sekitar kita. Penyebaran *E. coli* dapat terjadi dengan cara kontak langsung (bersentuhan, berjabat tangan, dan sebagainya) kemudian diteruskan melalui mulut (Melliawati, 2009). Penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* yaitu infeksi saluran kemih, diare, sepsis dan meningitis (Jawetz *et al.*, 1995).

Mengingat bakteri *Escherichia coli* berbahaya bagi kesehatan manusia, maka perlu dilakukan penanggulangan atau pencegahan terhadap perkembangan bakteri *E. coli*, salah satunya adalah dengan memanfaatkan bahan aktif dari tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri atau menekan pertumbuhan bakteri *E. coli*. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah tanaman trembesi (Prasad *et al.*, 2008).

Menurut Prasad *et al.* (2008), ekstrak daun trembesi dapat menghambat pertumbuhan bakteri (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*). Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukannya menunjukkan adanya senyawa tanin, flavonoid, saponin, steroid, glikosida kardiak, dan terpenoid dalam ekstrak daun trembesi.

Menurut Staples dan Elevitch (2006), daun trembesi dapat digunakan sebagai obat tradisional antara lain obat demam, diare, sakit kepala, dan sakit perut. Kegunaan daun trembesi sebagai obat diare, erat kaitannya dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dalam usus. Maka bagian tanaman trembesi yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daunnya yang berpotensi sebagai antibakteri *E. coli*.

Tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan karboksil. Senyawa tanin

terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis (Hovart, 1981). Ummah (2010) melaporkan bahwa senyawa tanin dalam ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Mengingat adanya kandungan senyawa tanin dalam ekstrak daun trembesi maka perlu dilakukan pemisahan senyawa tanin dari daun trembesi. Berdasarkan pemanfaatan dari daun trembesi yang salah satunya sebagai obat diare, maka dalam penelitian ini juga dilakukan uji antibakteri untuk mengetahui aktivitas senyawa tanin dalam daun trembesi terhadap bakteri *Escherichia coli*.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan –bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun trembesi yang diperoleh di Jalan Kapten Tantular, Renon, Denpasar Bali. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol (teknis), n-heksana (teknis), kloroform (teknis dan p.a), etil asetat (p.a), aseton, akuades, n-butanol (p.a), asam asetat (p.a), metanol (p.a), etanol (p.a), HCl pekat, asam askorbat, KBr, FeCl₃, serbuk gelatin, formaldehid, NaCl, serbuk NA (nutrietary agar), antibiotik *amoxicillin* 3,0 %.

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas dengan berbagai ukuran, corong pisah, statif dan klem, pengaduk kaca, tabung reaksi, neraca, pipet tetes, blender, pisau, kain kasa, kertas saring Whatman No. 1, *rotary vacuum evaporator*, autoklaf, inkubator, preforator, alat sentrifugasi, mistar, alat vorteks, kaca arloji, cawan petri, aluminium foil, kapas, penangas air, seperangkat alat kromatografi lapis tipis dan kromatografi preparatif, lampu UV, seperangkat alat spektrofotometer ultraviolet-visibel (UV-Vis), dan inframerah.

Cara Kerja

Ekstraksi Senyawa Tanin dari Daun Trembesi

Sebanyak 1 kg serbuk kering daun tanaman trembesi dimaserasi dengan 6,5 liter

etanol teknis 96 % selama \pm 24 jam. Hasil maserasi dilarutkan dalam etanol : air (3:7) dengan penambahan 3 mL asam askorbat 10 mM kemudian etanolnya diuapkan dengan penguap putar vakum. Ekstrak air dipartisi dengan n-heksana, kloroform dan aseton. Ekstrak n-heksana, kloroform, air, dan aseton yang diperoleh selanjutnya diuji tanin. Ekstrak yang menunjukkan positif tanin dilakukan uji aktivitas antibakteri *E. coli*.

Uji Fitokimia Senyawa Tanin pada Ekstrak Daun Trembesi

Uji tanin dilakukan terhadap ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, ekstrak aseton dan ekstrak air. Masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan larutan FeCl_3 1 %, jika ekstrak mengandung tanin akan terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua, sesuai dengan yang telah dilakukan Sa'adah (2010). Ekstrak ditambahkan dengan larutan gelatin, jika terbentuk endapan putih maka positif mengandung tanin. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia untuk membedakan antara tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis dengan menambahkan formaldehid 3 % + HCl 1 N (2:1) untuk menentukan adanya tanin terkondensasi, jika terbentuk endapan warna merah muda maka positif mengandung tanin terkondensasi. Filtrat hasil uji tanin terkondensasi diuji dengan FeCl_3 1 % untuk menentukan tanin terhidrolisis. Jika menunjukkan warna biru tinta atau hitam maka ekstrak positif mengandung tanin terhidrolisis. Sesuai yang telah dilakukan oleh Sa'adah (2010).

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun trembesi dilakukan pada konsentrasi 0; 3,0; 4,0; 5,0 dan 6,0 % (b/v). Pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan metode sumur difusi agar Sebanyak 100 μL ekstrak uji, kontrol negatif (aseton), kontrol positif (*amoxicillin* 3,0 %) dimasukkan kedalam sumur, kemudian diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam untuk bakteri dan diamati diameter hambat. Uji aktivitas antibakteri dilakukan kembali terhadap isolat hasil KLT preparatif yang positif mengandung tanin untuk memastikan bahwa senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri *E. coli*. Zona penghambatan senyawa antibakteri dari ekstrak tanin diukur berdasarkan jari-jari (mm) penghambatan berupa areal bening di sekeliling sumur uji. Penentuan

KHM dilakukan dengan metode yang sama yaitu sumur difusi agar dengan konsentrasi mulai dari 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 % (b/v).

Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Tanin

Pemisahan dengan KLT dilakukan menggunakan fase gerak n- butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5), Etil asetat : kloroform : asam asetat 10 % (7:2:1), Metanol : kloroform (4:1), dan Etanol : etil asetat (3:2). Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm, dan masing-masing noda diukur harga Rfnya. Selanjutnya pengembang yang menunjukkan noda terbanyak dan terpisah dengan baik, digunakan sebagai fase gerak pada KLT preparatif.

Pemisahan dengan KLT preparatif menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5) yang memberikan pemisahan terbaik pada KLT. Noda yang terbentuk berupa pita diperiksa di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Noda pada KLT Preparatif dikeruk dan dilarutkan dengan aseton yang selanjutnya diuji fitokimia dan diuji kemurnian dengan KLT. Isolat yang menunjukkan hasil positif tanin selanjutnya diuji aktivitas antibakteri *E. coli* dan diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Isolat-isolat hasil dari KLT preparatif diuji kemurnian menggunakan KLT dengan beberapa eluen, noda diperiksa dengan lampu UV 366 nm dan diukur harga Rfnya. Apabila diperoleh satu noda, maka dapat diasumsikan bahwa isolat yang diperoleh relatif murni secara KLT.

Identifikasi Senyawa Tanin dengan Spektrofotometer UV-vis dan FTIR

Isolat yang menunjukkan positif mengandung tanin yang diperoleh dari hasil KLT preparatif dilarutkan dengan aseton dan disentrifugasi, selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Masing-masing isolat dimasukkan dalam kuvet dan diamati spektrum yang dihasilkan pada panjang gelombang 200-800 nm. KBr ditambahkan dengan isolat yang diduga senyawa tannin diidentifikasi dengan spektrofotometer FTIR dengan panjang gelombang 4000-400 cm^{-1} , spektrum yang terbentuk diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Uji Fitokimia Senyawa Tanin dalam Daun Trembesi

Maserasi 1,00 kg serbuk kering daun trembesi dengan 6,5 L etanol teknis 96 % dihasilkan 36,80 g ekstrak kental etanol yang berwarna hijau pekat. Proses partisi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana, kloroform, dan aseton menghasilkan ekstrak n-heksana, kloroform, air dan aseton. Selanjutnya ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, ekstrak air, dan ekstrak aseton dilakukan uji tanin dengan reagen pendeteksi tanin.

Hasil uji fitokimia ekstrak kloroform, air dan aseton dari daun trembesi menunjukkan positif terhadap uji FeCl₃ dengan menghasilkan perubahan warna coklat menjadi hijau kehitaman. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform, air dan aseton daun trembesi mengandung senyawa fenol. Hasil uji fitokimia ekstrak air dan aseton daun trembesi dengan larutan gelatin menunjukkan adanya endapan putih, sehingga diperoleh hasil bahwa ekstrak air dan aseton daun trembesi positif mengandung senyawa tanin. Namun uji fitokimia dengan larutan formaldehid 3 % + HCl 1 N (2:1) tidak menunjukkan adanya endapan merah muda, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air dan aseton daun trembesi tidak mengandung tanin terkondensasi. Hasil uji fitokimia dari filtrat uji tanin terkondensasi menunjukkan warna hitam, dimungkinkan ekstrak air dan aseton daun trembesi positif mengandung tanin terhidrolisis. Jika dilihat dari intensitas warnanya, ekstrak aseton menunjukkan intensitas warna lebih kuat dibandingkan ekstrak air, maka ekstrak aseton selanjutnya diuji aktivitas antibakteri *E. coli*.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton

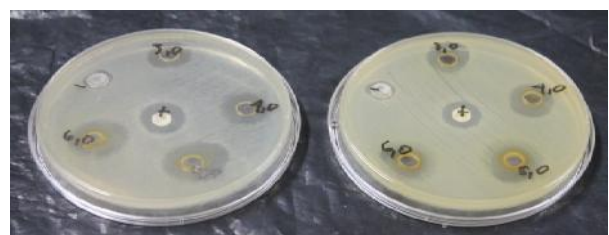
Hasil uji aktivitas antibakteri *E. coli* ekstrak aseton dipaparkan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak aseton daun trembesi konsentrasi 3,0; 4,0; 5,0 dan 6,0 % (b/v) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan diameter hambat sebesar

5,3; 6,8; 9,0 dan 9,5 mm setelah pengurangan dengan kontrol pelarut yang dipakai. Berdasarkan kategori daya hambat bakteri menurut Ardiansyah (2004), hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa tanin dari ekstrak aseton daun trembesi mempunyai daya hambat antara 5-10 mm, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak aseton memiliki aktivitas antibakteri yang sedang terhadap bakteri *E. coli*. Kontrol positif (*amoxicillin* 3,0 %) mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan diameter hambat sebesar 5,5 mm yang menunjukkan diameter hambat hampir sama dengan ekstrak aseton 3,0 %, maka dapat dinyatakan bahwa kontrol positif dan ekstrak aseton memiliki aktivitas antibakteri *E. coli* yang hampir sama. Selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis pada ekstrak aseton.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak aseton daun trembesi

Konsentrasi Ekstrak Uji (% b/v)	Diameter Hambatan (mm)		Rata-rata (mm)
	I	II	
Kontrol negatif (0)	2,3	2,0	2,15
3,0	7,3	7,6	7,45
4,0	8,6	9,3	8,95
5,0	11,6	10,6	11,1
6,0	12,3	11,0	11,65
Kontrol positif (<i>amoxicillin</i> 3,0 %)	7,3	8,0	7,65



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak aseton daun trembesi terhadap *E. coli*

Tabel 2. Hasil uji Anova Duncan's Multiple Range Test diameter hambat antar konsentrasi

	JK	Db	RK	F	P
Antar konsentrasi	116,66416667	5	23,332833333	72,725714286	0,0000****
Dalam konsentrasi	1,925	6	0,3208333333		
Total	118,58916667	11			

Tabel 3. Hasil LSD diameter hambat antar konsentrasi

Konsentrasi (%)	Ranking	Rata-rata	n	Ada/tidak perbedaan signifikan
Kontrol negatif (0)	6	2,15	2	d
3,0	5	7,45	2	c
4,0	3	8,95	2	b
5,0	2	11,1	2	a
6,0	1	11,65	2	a
Kontrol positif	4	7,65	2	bc

Tingkat signifikan = 5 %

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antar konsentrasi, maka dilakukan analisis statistika menggunakan uji ANOVA Duncan's Multiple Range Test yang hasilnya tampak pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat yang signifikan ($p < 0,05$) antara semua konsentrasi, maka dilakukan analisis lebih lanjut dengan menggunakan uji *Least Significant Difference* (LSD) yang hasilnya dipaparkan pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan terlihat bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dengan ekstrak aseton konsentrasi 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 %, dan kontrol positif. Sementara antara konsentrasi 5,0 % dengan 6,0 % tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Kontrol positif menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan ekstrak aseton konsentrasi 5,0 % dan 6,0 %, sebaliknya tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 3,0 % dan 4,0 %. Hal ini dilihat dari uji LSD yang menunjukkan bahwa kontrol positif berada diantara konsentrasi 3,0 % dan 4,0 %.

Pada uji aktivitas antibakteri dilakukan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode yang sama. Hasil penentuan KHM menunjukkan bahwa konsentrasi 0,1 % terdapat daerah bening dengan intensitas sama dengan kontrol negatif sebesar 2,0 mm sehingga dapat dikatakan bahwa pada konsentrasi tersebut yang memberikan aktivitas antibakteri *E. coli* adalah pelarutnya. Pada konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 % menunjukkan adanya aktivitas antibakteri *E. coli* dengan diameter hambat 0,5; 1,3; 1,7 dan 3,7 mm setelah pengurangan dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa nilai KHM dari aktivitas antibakteri ekstrak aseton positif tanin yaitu pada konsentrasi 0,2 % (b/v) dengan diameter hambat 0,5 mm.

Pemisahan dan Pemurnian senyawa Tanin

Pemisahan senyawa tanin pada penelitian ini didahului dengan pemilihan eluen terbaik untuk menentukan fase gerak yang digunakan.

Berdasarkan hasil pemisahan diperoleh bahwa eluen n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) (BAA) memberikan pemisahan terbaik, hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah dengan baik dan jumlah noda terbanyak yaitu 6 noda. Sehingga eluen ini digunakan dalam pemisahan senyawa tanin dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Hasil pemisahan dengan KLT preparatif diperoleh noda berupa pita sebanyak 6 pita dilihat dengan lampu UV 366 nm.

Hasil uji fitokimia isolate hasil KLTP menunjukkan bahwa isolat 1 (kuning) positif mengandung senyawa fenol, namun negatif terhadap uji dengan larutan gelatin sehingga isolat 1 dapat dinyatakan tidak mengandung senyawa tanin. Isolat 2 dan 3 menunjukkan positif mengandung tanin terhidrolisis dengan intensitas warna yang sama. Selanjutnya isolat 2 dan isolat 3 diuji kemurnian dengan KLT analitik, diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR serta diuji aktivitas antibakteri *E. coli* untuk memastikan bahwa senyawa tanin memiliki potensi antibakteri *E. coli*. Berdasarkan hasil di atas isolat 2 dan isolat 3 positif mengandung tanin memiliki nilai Rf 0,61 dan 0,65. Isolat 2 dan 3 hasil KLTP dilakukan uji kemurnian dengan KLT menggunakan beberapa eluen dan menunjukkan bahwa isolat 2 dan 3 hasil KLTP relatif murni secara KLT.

Uji Aktivitas Antibakteri Isolat 2 dan 3 Hasil KLTP

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat positif tanin dengan konsentrasi 6,0 % (b/v) memiliki diameter hambatan sebesar 7,0 mm untuk isolat 2 dan 2,5 mm untuk isolat 3 setelah pengurangan

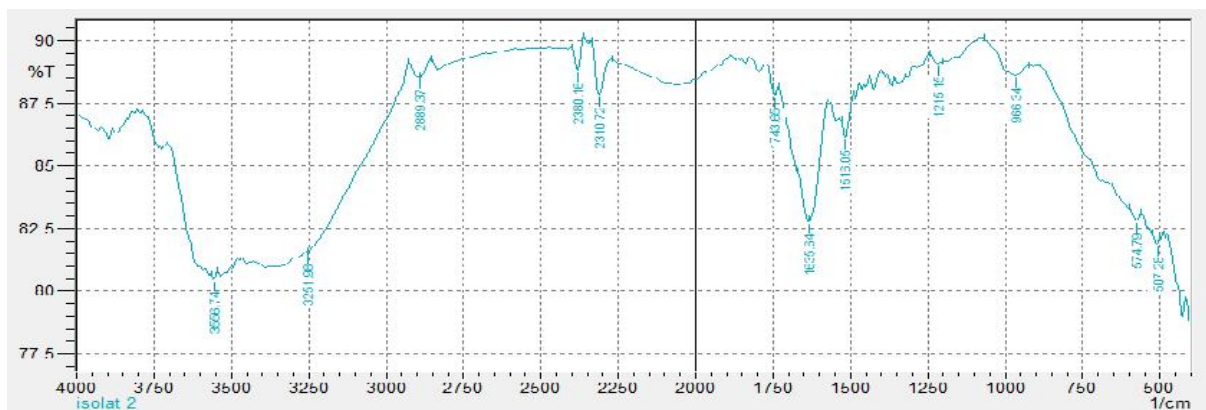
dengan kontrol negatif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa tanin pada isolat 2 memiliki aktivitas antibakteri *E. coli* yang sedang, sedangkan isolat 3 memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap *E. coli*. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri kedua isolat tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak aseton lebih aktif sebagai antibakteri *E. coli* dibandingkan senyawa tanin relatif murni hasil dari KLTP. Hal ini kemungkinan disebabkan karena senyawa pada ekstrak aseton bersifat sinergis sehingga saling memperkuat aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.

Identifikasi Senyawa Tanin dengan Spektrofotometer UV-vis dan FTIR

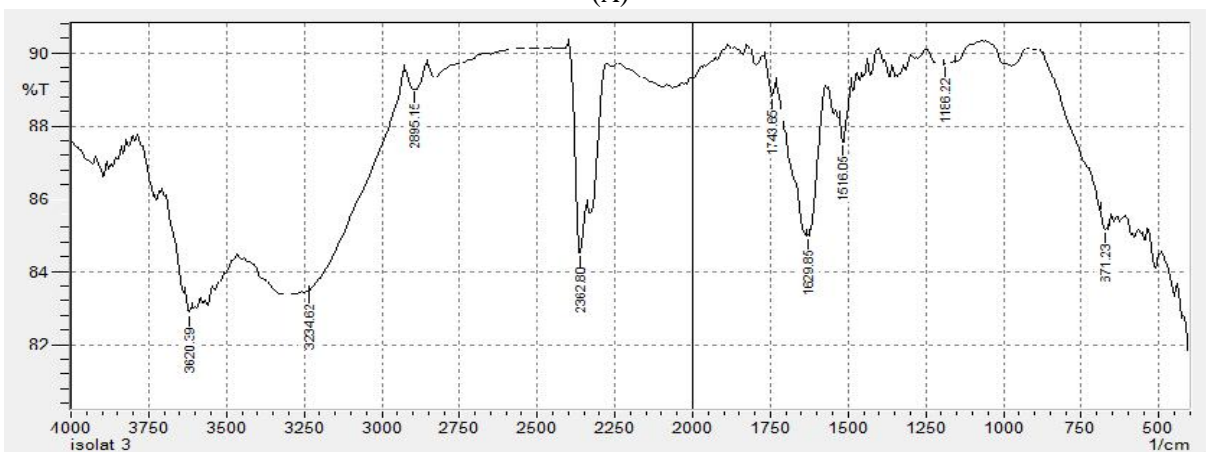
Spektrum UV-Vis dari isolat 2 dan isolat 3 menunjukkan panjang gelombang maksimum masing-masing 346,50 nm dan 347,00 nm.

Panjang gelombang maksimum yang ditunjukkan kedua isolat tidak berbeda jauh dan berada antara 300-550 nm yang diperkirakan adanya transisi \rightarrow^* yang mengindikasikan adanya ikatan C=C terkonjugasi dan transisi $n \rightarrow^*$ berupa kromofor C=O (Sastrohamidjojo, 2001). Identifikasi senyawa tanin menggunakan spektrofotometer FTIR dilakukan analisis pada bilangan gelombang di daerah IR 4000-400 cm^{-1} . Spektrum serapan inframerah dari isolat 2 dan 3 hasil KLTP dipaparkan pada Gambar 2.

Spektrum inframerah dari isolat 2 hasil pemisahan KLTP tampak adanya serapan pada daerah 3556,74 cm^{-1} dan 3251,98 cm^{-1} dengan intensitas kuat dan bentuk pita lebar menunjukkan adanya gugus fungsi seperti rentangan O-H.



(A)



(B)

Gambar 2. Spektrum inframerah hasil identifikasi (A) isolat 2 dan (B) isolat 3

Pada bilangan gelombang 3620,39 cm^{-1} dan 3234,62 cm^{-1} untuk isolat 3 terjadi serapan yang lebar dengan intensitas kuat menunjukkan bahwa pada isolat 3 juga terdapat gugus O-H.

Serapan tersebut menunjukkan bahwa pada isolat 2 dan 3 terdapat gugus -O-H yang terikat pada gugus alifatik dan aromatik akibat dari vibrasi ikatan hidrogen intramolekul (Sastrohamidjojo, 2001). Hal ini diperkuat dengan adanya serapan yang lemah dan lebar pada daerah bilangan gelombang 1363,67 cm^{-1} pada isolat 2 dan 1340,53 cm^{-1} pada isolat 3 yang menunjukkan adanya gugus C-O-H. Gugus O-H juga diperkuat dengan adanya O-H *bending* dengan serapan lemah dan lebar pada bilangan gelombang 966,34 cm^{-1} (isolat 2) dan 967,20 cm^{-1} (isolat 3).

Bilangan gelombang pada isolat 2 dan 3 yaitu 2889,37 cm^{-1} dan 2895,15 cm^{-1} dengan serapan yang tajam dan intensitas lemah menunjukkan adanya gugus C-H alifatik. C-H alifatik diperkuat dengan adanya C-H *bending* dengan intensitas lemah dan bentuk pita tajam pada bilangan gelombang 574,79 cm^{-1} dan 507,28 cm^{-1} (isolat 2), serta bilangan gelombang 671,23 cm^{-1} ; 576,72 cm^{-1} dan 509,21 cm^{-1} (isolat 3).

Pita serapan yang tajam dan intensitas sedang pada bilangan gelombang 1743,65 cm^{-1} dan 1635,64 cm^{-1} untuk isolat 2 dan 3 menunjukkan adanya gugus C=O ester. Hal ini diperkuat dengan terjadinya serapan yang lebar dan intensitas lemah pada bilangan gelombang 1215,15 cm^{-1} pada isolat 2 dan 1186,22 cm^{-1} pada isolat 3 yang menunjukkan adanya gugus C-O-C eter. Terdapatnya gugus ester memperkuat dugaan adanya senyawa tanin terhidrolisis, karena tanin terhidrolisis terbentuk akibat ikatan ester antara gugus hidroksi pada glukosa dengan gugus karboksil dari asam fenolat (Manitto, 1981).

Dugaan senyawa tanin diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 1516,05 cm^{-1} dengan intensitas lemah dan bentuk pita tajam pada kedua isolat tersebut yang menunjukkan adanya C=C aromatik. Spektrum inframerah di atas menunjukkan bahwa isolat 2 dan isolat 3 mempunyai gugus fungsi karakteristik yang sama yaitu gugus -O-H, C-H alifatik, C=O ester, C=C aromatik, C-O-H, dan C-O-C eter. Puncak-puncak tersebut merupakan puncak spesifik dari senyawa tanin khususnya tanin terhidrolisis, sehingga memperkuat dugaan bahwa isolat 2 dan 3 hasil

KLTP dari ekstrak aseton daun trembesi mengandung senyawa tanin terhidrolisis.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa tanin dalam ekstrak daun trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri *E. coli* yang sedang untuk isolat 2 dan lemah untuk isolat 3 pada konsentrasi 6,0 % (b/v).
2. Jenis senyawa tanin yang terdapat dalam ekstrak daun trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) yang berpotensi sebagai antibakteri *E. coli* adalah tanin terhidrolisis dengan gugus-gugus fungsi karakteristik yaitu gugus -O-H, C-H alifatik, C=O ester, C=C aromatik, C-O-H, dan C-O-C eter.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan penulis menyarankan :

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri *E. coli* terhadap kandungan metabolit sekunder lain seperti alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid yang terdapat dalam daun trembesi.
2. Perlu dilakukan penelitian dan identifikasi lebih lanjut menggunakan teknik spektroskopi lainnya seperti NMR untuk memastikan struktur molekul dari isolat 2 dan isolat 3 hasil KLT.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak atas saran dan masukannya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiansyah, 2004, Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan, [Berita IPTEK.com](#). Diakses 24 Agustus 2013

- Goldberg HS., 1959, *Antibiotics: Their Chemistry and Non-Medical Uses*, Van Nostrand Company, New York
- Horvart, 1981, Tannins : Definition. 2001, <http://www.ansci.cornell.edu/plant/toxicagents/tannin/definition.html>.animal science webmaster, Cornert University. Diakses 13 Agustus 2013
- Jawetz E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel, and L. N. Ornston, 1995, *Mikrobiologi Kedokteran*, ed. 20, University of California, San Francisco
- Manitto, P., 1981, *Biosynthesis of Natural Products*, The 1st edition, Ellis Horwood Limited Publiser, England
- Melliawati, R., 2009, Escherichia coli Dalam Kehidupan Manusia, Staf Peneliti Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, *BioTrends*, 4 (1)
- Prasad, R.N., Viswanathan, S., Devi, J.R., Nayak, Swetha, V.V.C., Archana, B.R., Parathasarathy, N., and Rajkumar, J., 2008, Short Communication, Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of Samanea saman, *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 (10) : 268-270
- Sa'adah, L., 2010, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), *Skripsi*, Jurusan Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta
- Staples, G.W. and Elevitch, C.R., 2006, *Samanea saman* (Trembesi), ver. 2.1. In: C.R Elevitch (ed). Species Profiles For Pacific Island Agroforestry, Permanent Agriculture Resources (PAR)
- Ummah, M.K., 2010, Ekstraksi dan Pengujian aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin pada daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) (Kajian Variasi Pelarut), *Skripsi*, Jurusan Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang