

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA MINYAK ATSIRI DARI
TUMBUHAN SEMBUKAN (*Paederia foetida L.*) DENGAN METODE
KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROSKOPI MASSA (GC-MS)**

Dewa Gde Agung Yuda Pratama*, I Gusti Agung Gede Bawa, dan I Wayan Gede Gunawan

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali

**E-mail : cuplisbarker1@gmail.com*

ABSTRAK

Tumbuhan sembukun merupakan tumbuhan liar yang kerap menempel dipagar rumah dan mempunyai banyak kandungan kimia salah satunya adalah minyak atsiri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri tumbuhan sembukun serta mengetahui senyawa-senyawa yang aktif sebagai antibakteri. Pada penelitian ini minyak atsiri dari tumbuhan sembukun diperoleh dengan metode destilasi uap sebanyak 1,4 mL. Minyak atsiri yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode sumur difusi agar. Identifikasi minyak atsiri tumbuhan sembukun dilakukan dengan metode Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (GC-MS). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa minyak atsiri tumbuhan sembukun tidak memiliki aktivitas antibakteri yang spesifik pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri tumbuhan sembukun adalah Linalool Terhidrogenasi, Eugenol, Tetradecane, Heksadecane, dan Dibutyl phthalate.

Kata kunci : isolasi, identifikasi, minyak atsiri, antibakteri, tumbuhan sembukun, GC-MS

ABSTRACT

Sembukan is a wild plant that is often attached to the house fenced and has a lot of chemicals compound, including essential oil. This study aims to determine the active compounds as antibacterial of sembukun essential oil. One point four millilitres of essential oil was obtained by steam distillation. The essential oils were then tested for antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Stapylococcus aureus* using the well diffusion method in gel. Identification of the essential oils conducted using Chromatography Gas – Mass Spectroscopy (GC-MS). The results of this study indicated that the essential oils did not have specific antibacterial activity against the bacteria tested. Compounds contained in the essential oils of sembukun were hydrogenated Linalool, Eugenol, Tetradecane, Heksadecane, and Dibutyl phthalate.

Keywords : isolation, identification, essential oil, antibacterial activity, sembukun plant, GC-MS

PENDAHULUAN

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional telah dilakukan sejak jaman dahulu, yang didasari atas pengalaman secara turun-temurun. Tumbuhan merupakan sumber bahan kimia produk alami bahan obat yang penting bagi kesehatan (Silokin, 2007). Salah satunya adalah tumbuhan sembukun (*Paederia foetida L.*) yang

banyak mempunyai manfaat sebagai obat diare dan luka luar (Utami, 2008).

Banyaknya manfaat tumbuhan sembukun kemungkinan disebabkan oleh banyaknya senyawa kimia yang terkandung diantaranya : pada daun mengandung senyawa skatol dan indol yang berpengaruh terhadap susunan saraf pusat maupun susunan saraf otonom yang dapat mempengaruhi pengurangan kontraksi usus sehingga dapat menyebabkan efek antidiare (Rahayuningsih,

1980). Ekstrak etanol dari batang sembung mengandung iridoid glikosida, paederosida, asam paederosida, metil paederosidate, dan saposinosida (Xu *et al.*, 2006). Selain itu daun tanaman dan batang sembung juga mengandung alkaloid, paederin, metilmerkaptan (Silokin, 2007), asperulosida, deasetilasperulosida, metil ester asam paederosida, gama-sitosteron, arbutin, asam oleanolik, dan minyak atsiri (Utami, 2008).

Minyak atsiri dikenal juga dengan nama minyak eteris atau minyak terbang (*ethereal oil*, *volatile oil*) dihasilkan oleh tumbuhan. Minyak tersebut mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi, mempunyai rasa getir, berbau wangi sesuai dengan bau tumbuhan penghasilnya, umumnya larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air (Ketaren, 1985). Pada konsentrasi tinggi, minyak atsiri dapat digunakan sebagai anestetik lokal, misalnya minyak cengkeh yang digunakan untuk mengatasi sakit gigi, tetapi dapat merusak selaput lendir. Kebanyakan minyak atsiri juga bersifat antibakteri dan antijamur yang kuat (Agusta, 2000).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Maryati dkk. (2007), senyawa eugenol dari daun kemangi memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan *lethal concentration* minimal 0,5% v/v dan 0,25% v/v. Memperhatikan kegunaan empiris tumbuhan sembung sebagai obat diare, cacingan dan fungsi senyawa minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri, maka peneliti tertarik untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa minyak atsiri pada tumbuhan sembung yang berkhasiat sebagai antibakteri dengan metode GC-MS.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan sembung (*Paederia foetida* L.) yang masih muda dan segar yang diperoleh dari Desa Siangan, Kecamatan Gianyar, Kabupaten Gianyar yang sebelumnya sudah di determinasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Eka Karya Bali di Bedugul, Tabanan, Bali. sebagai bahan petunjuk uji hayati yang digunakan dalam

penelitian ini adalah Mikroba *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNUD dan bahan kimia yang digunakan adalah n-heksana p.a, NaCl, nutrien agar, dan akuades.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi uap, corong pisah, erlenmeyer, neraca analitik, gelas ukur, botol tempat minyak atsiri, aluminium foil, cakram kertas saring, cawan petri, mikro pipet, api bunsen, rotari evaporator, dan seperangkat alat GC-MS.

Cara Kerja

Penyiapan sampel

Tumbuhan sembung yang diperoleh dicuci bersih kemudian dipotong-potong menjadi bagian kecil. Karena pengerjaan menggunakan jaringan segar maka kondisi tumbuhan diusahakan agar tetap terjaga keseegarannya (Sanjaya, 2002).

Isolasi minyak atsiri dengan destilasi uap

Tumbuhan sembung segar sebanyak ± 3 kg didestilasi secara bertahap sebanyak 3 kali, dan setiap kali destilasi menggunakan ± 1 kg tumbuhan sembung segar. Tumbuhan sembung yang telah dipotong kecil-kecil kemudian didestilasi dengan alat destilasi uap. Dandang yang digunakan dilengkapi dengan kondensor, kemudian dipanaskan. Hasil dari destilasi uap, minyak yang diperoleh terpisah dari air, namun minyak perlu dibebaskan lagi dari sisa-sisa air. Destilat yang diperoleh merupakan campuran minyak dengan air yang selanjutnya dipisahkan dalam corong pisah. Untuk pemisahan sempurna, destilat ditambahkan natrium klorida (NaCl) agar minyak yang teremulsi terpisah. Fase air ditampung dengan erlenmeyer, untuk dipisahkan lagi karena kemungkinan masih mengandung sedikit minyak yang teremulsi. Fase air ini ditambahkan dengan pelarut n-heksan p.a dan dilakukan pengocokan, kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (n-heksan) ditampung dan lapisan bawah (air) dibuang. Ekstrak n-heksan yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan alat rotari vakum evaporator hingga diperoleh minyak yang tersisa (Guenther, 1990).

Identifikasi minyak atsiri

Minyak atsiri diteteskan sebanyak 1 tetes pada sepotong kertas saring dan didiamkan

beberapa menit. Setelah beberapa menit, minyak atsiri akan menguap dengan sempurna tanpa meninggalkan noda transparan (Guenther, 1990).

Uji aktifitas antibakteri

Pembuatan suspensi bakteri

Stok kultur dari bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), dibiakkan di dalam 50 mL media nutrisi broth yang terdapat di dalam erlenmeyer. Biakan ini kemudian diinkubasi pada temperatur 37⁰ C selama 24 jam. Selanjutnya biakan dapat digunakan dalam uji aktivitas antibakteri (Michael, 1986).

Uji aktivitas antibakteri

Uji daya hambat antibakteri ini diawali dengan penyiapan permukaan media padat yang dilapisi bakteri yang dilakukan dengan cara memipet 0,5 mL suspensi bakteri ke dalam cawan petri steril, selanjutnya dituangi dengan media agar (dicairkan pada temperatur 40⁰C) yang sudah menjadi dingin tapi belum memadat. Cawan petri ini kemudian digoyangkan untuk memperoleh suspensi bakteri yang homogen pada permukaan media agar. Setelah itu cakram kertas saring yang telah disiapkan diinjeksi sebanyak 100 µL larutan uji minyak sebelum difraksinasi, pelarut yang digunakan dan antibiotika. Cakram kemudian diletakkan di atas media pembenihan, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37⁰C. Pada uji ini hasil (+) ditandai dengan terbentuknya daerah bening yang merupakan daerah hambat pertumbuhan bakteri (Entjang, 2001).

Analisis dengan kromatografi gas-spektroskopi massa

Minyak atsiri yang diperoleh, kemudian dianalisis menggunakan alat GC-MS untuk mengetahui komponen senyawa golongan kimia penyusun minyak atsiri tumbuhan sembukun (*Paederia foetida L.*) dan spektrum massa yang diperoleh dari tumbuhan sembukun (*Paederia foetida L.*) dibandingkan dengan spectrum massa dari senyawa pembanding yang diketahui dalam database yang telah terprogram pada alat GC-MS (Sanjaya, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi minyak atsiri

Tumbuhan Sembukan segar yang telah dipotong kecil-kecil sebanyak 3 kg. Setelah dides-

tilasi uap dan diuapkan dengan rotary vacuum evaporator, diperoleh minyak atsiri yang berwarna kuning sebanyak 1,4 mL (1,064 g). Selanjutnya sesuai dengan perhitungan diperoleh berat jenis minyak atsiri tumbuhan sembukun sebesar 0,76 g/mL dan rendemen sebesar 0,035%.

Identifikasi minyak atsiri

Identifikasi minyak atsiri ini dilakukan untuk memastikan bahwa minyak yang diperoleh merupakan minyak atsiri. Hasil dari identifikasi minyak atsiri ini menunjukkan bahwa tidak ada noda transparan pada kertas saring karena minyak atsiri menguap pada suhu ruangan, yang membuktikan minyak yang diperoleh merupakan minyak atsiri. Selanjutnya minyak atsiri yang diperoleh dapat diuji dengan uji aktivitas antibakteri dan dianalisis menggunakan Kromatografi Gas dan Spektroskopi Massa (GC-MS).

Uji aktivitas antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dari Tumbuhan Sembukan

No	Minyak Atsiri	Zona Hambatan Terhadap Bakteri (cm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. Coli</i>
1	Tumbuhan Sembukan	0	0

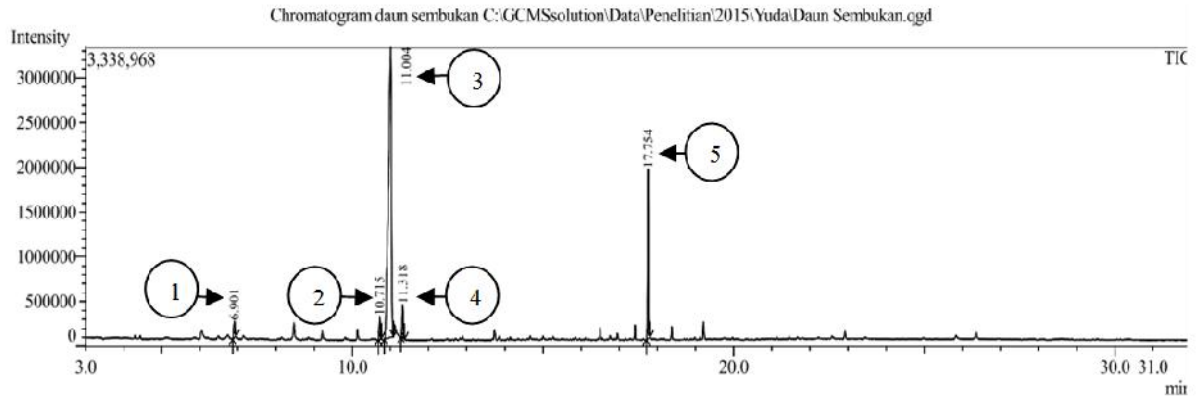
Hasil uji aktivitas antibakteri di atas menunjukkan bahwa minyak atsiri tumbuhan sembukun tidak mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena kandungan Linalol dan Eugenol pada tumbuhan sembukun sangat sedikit dan kemungkinan senyawa Linalol dan Eugenol terhidrogenasi (Sanjaya, 2002).

Analisis Minyak Atsiri Tumbuhan Sembukan Dengan GC-MS

Hasil analisis dengan GC-MS akan diperoleh dua data yaitu kromatogram yang berasal dari hasil analisis kromatografi gas (GC) dan spektra massa dari hasil analisis spektroskopi massa (MS). Kromatogram dari analisis dengan kromatografi gas menunjukkan lima puncak

senyawa dengan dua puncak senyawa utama yang teridentifikasi masuk dalam golongan minyak atsiri yaitu Linalool terhidrogenasi dan Eugenol (Silverstein dkk, 1991). Kromatogram minyak

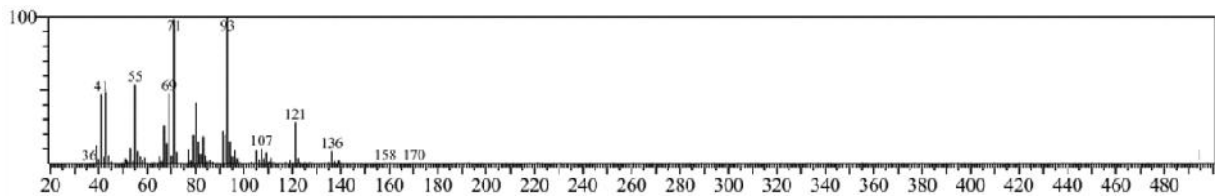
atsiri tumbuhan sembukan ditunjukkan pada Gambar 1.



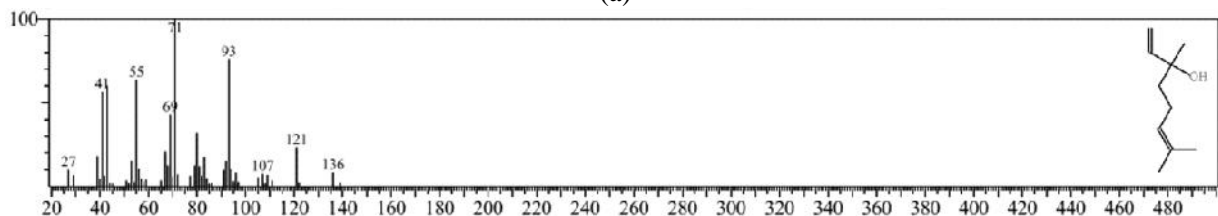
Gambar 1. Kromatogram Minyak Atsiri Tumbuhan Sembukan

Tabel 2. Dugaan Senyawa-senyawa Atsiri pada Kromatogram Minyak Atsiri Tumbuhan Sembukan Berdasarkan Database *Wiley7.LIB* dan *NIST08.LIB*

No	Puncak Senyawa	Waktu Retensi (menit)	Puncak (% Area)	M ⁺	Senyawa Dugaan	Golongan Senyawa
1	Puncak 1	6.900	73104	158	Linalol terhidrogenasi	Monoterpen
2	Puncak 2	10.716	74179	164	Eugenol	Monoterpen
3	Puncak 3	11.004	3644079	198	Tetradecane	Alkana
4	Puncak 4	11.319	158381	226	Heksadecane	Alkana
5	Puncak 5	17.753	1928550	278	Dibutyl phthalate	Ester dikarboksilat

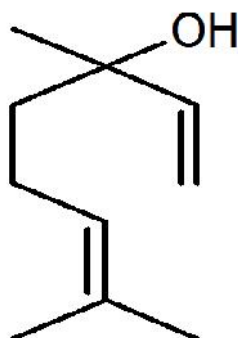


(a)



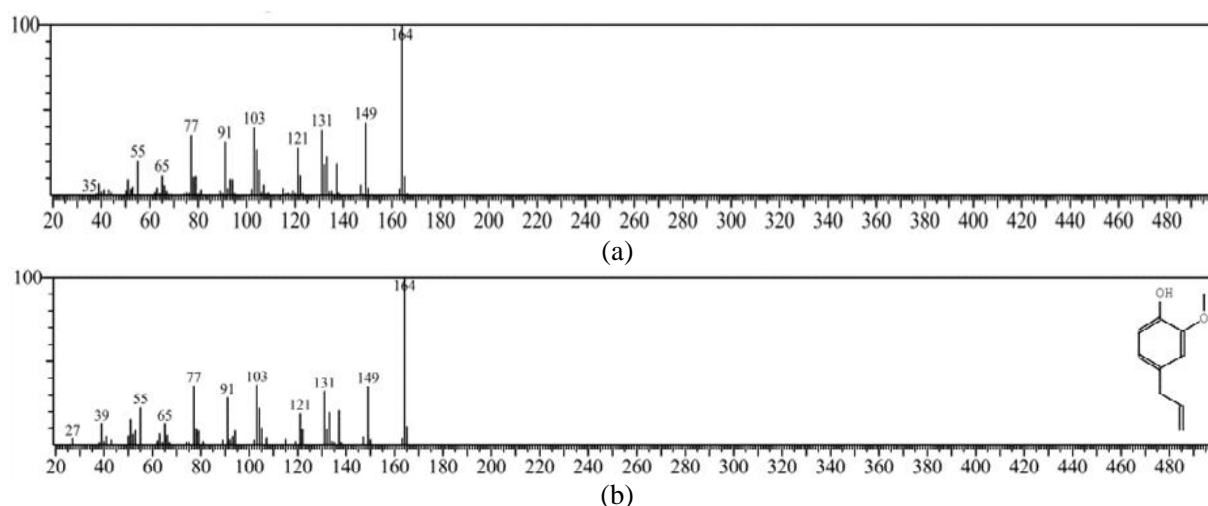
(b)

Gambar 2. Spektrum Massa Senyawa Puncak 1 (a) dan Spektrum Massa Senyawa Linalol (b)

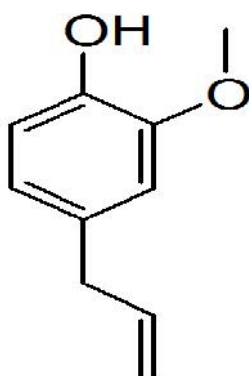


Gambar 3. Setruktur Senyawa Linalol

Hasil analisis terhadap spektra massa puncak 1 dengan waktu retensi 6,900 menit yang ditunjukkan pada Gambar 2a. Kemungkinan merupakan senyawa Linalol yang terhidrogenisasi (Linalol jenuh) dengan rumus molekul $C_{10}H_{22}O$ yang muncul pada puncak ion molekuler 158. Hal ini didasari oleh indek kemiripannya dengan fragmentasi linalol ($C_{10}H_{18}O$) cukup tinggi yaitu 96% dengan puncak dasar (base peak) pada m/z 93.00 yang ditunjukkan pada Gambar 2b yang memiliki struktur seperti pada Gambar 3 (Silverstein dkk, 1991).



Gambar 4. Spektrum Massa Senyawa Puncak 2 (a) dan Spektrum Massa Senyawa Eugenol (b)



Gambar 5. Setruktur Senyawa Linalol

Hasil analisis terhadap spektra massa puncak 2 dengan waktu retensi 10,716 menit yang ditunjukkan pada Gambar 4a. Kemungkinan merupakan senyawa Eugenol dengan rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$ yang muncul pada puncak ion molekuler 164. Hal ini didasari oleh indek kemiripannya cukup tinggi yaitu 95% dengan puncak dasar (base peak) juga pada m/z 164 yang ditunjukkan pada Gambar 4b. Disamping itu, pola fragmentasi senyawa pada puncak 2 sesuai dengan pola fragmentasi senyawa Eugenol yang ditunjukkan pada Gambar 5 (Silverstein dkk, 1991).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa Minyak atsiri yang terkandung dalam tumbuhan sembukun tidak memiliki aktivitas antibakteri yang spesifik pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan senyawa atsiri yang terkandung dalam minyak atsiri tumbuhan sembukun (*Paederia foetida* L.) yang tidak berkhasiat antibakteri adalah Linalol terhidrogenasi dan Eugenol yang merupakan turunan dari senyawa atsiri.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa linalol, karena senyawa ini umumnya memiliki aktivitas antibakteri dan menguji aktivitas antibakteri minyak atsiri tumbuhan sembukun pada bakteri lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Dra. Ni Made Suaniti, M.Si. dan Ni Komang Ariati, S.Si., M.P. serta semua pihak yang ikut membantu dan terlibat dalam penelitian ini, sehingga tulisan ini dapat terselesaikan

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A., 2000, *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*, ITB, Bandung, 29-30
- Entjang I., 2001, *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*, PT. Citra Aditya Bakti, Bandung
- Guenther, E., 1972, *Minyak Atsiri*, Jilid IV A, a.b. Ketaren S, Universitas Indonesia Press, Jakarta
- Ketaren, S., 1985, *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*, Balai Pustaka, Jakarta, h. 44-47, 62-64
- Maryati, Ratna S. F., dan Triastuti R., 2007, Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 8 (1) : 30 – 38
- Michael J. P., 1986, *Mikrobiologi Dasar*, a.b. Ratna Sri Hadioetomo, Universitas Indonesia, Jakarta
- Rahayuningsih, Y., 1980, Pengaruh Infus Daun Kesembukan (*Paederia foetida* L.) terhadap kontraksi duodenum tikus putih betina terisolasi, *Skripsi*, ITB, Bandung
- Sanjaya, I. M. A., 2002, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Atsiri Yang Memiliki Aktivitas Antibakteri Pada Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.), *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran
- Silokin, 2007, Potensi Jenis-jenis Herba Liar di Kebun Raya Purwodadi Sebagai Obat, *Proseding : Seminar Nasional Pendidikan Biologi FKIP UNS*, Februari 21st 2007, Pasuruan
- Silverstein, R. M., G. C. Bassler., T. C. Morrill., 1991, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, John Wiley and Sons, New York
- Utami, P., 2008, *Buku Pintar Tanaman Obat*, Agromed, Jakarta
- Xu, Z., Shulin, P., Xin, L., Bingru, B., and Lisheng, D., 2006, Sulfur-containing iridoid glucosides from *Paederia scandens*, *Fitoterapia*, 8 (1) : 11-25