

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA TRITERPEN DARI DAUN TREMBESI
(*Samanea saman* (Jacq.) Merr) TERHADAP *Escherichia coli***

I Gede Putra Sedana*, Wiwik Susannah Rita dan I Made Sutha Negara

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

*E-mail : sedana_psd@rocketmail.com

ABSTRAK

Isolasi dan identifikasi senyawa triterpen dari daun trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) dan uji aktivitasnya terhadap *Escherichia coli* (*E.coli*) telah dilakukan. Penelitian bertujuan untuk mengetahui karakteristik senyawa triterpen yang terdapat dalam daun trembesi serta aktivitasnya terhadap *E.coli*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan partisi, pemisahan senyawa dilakukan dengan kromatografi kolom, sedangkan uji aktivitas terhadap *E.coli* dengan metode difusi cakram, dan identifikasi dilakukan dengan spektrofotometer Ultraviolet-visible (UV-vis) dan Inframerah. Sebanyak 1 kg serbuk kering daun trembesi dimaserasi dengan etanol menghasilkan 73,38 g ekstrak pekat etanol. Ekstrak pekat etanol dilarutkan dengan etanol: air (3:7), kemudian etanol diuapkan sehingga diperoleh ekstrak air. Ekstrak air dipartisi dengan n-heksana dan kloroform sehingga diperoleh ekstrak n-heksana, kloroform dan air, selanjutnya ekstrak n-heksana, kloroform, dan air diuji dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak kloroform mengandung triterpen. Ekstrak n-heksana dan kloroform selanjutnya diuji aktivitasnya terhadap *E.coli*. Hasil uji aktivitas ekstrak n-heksana dan kloroform terhadap *E.coli* pada konsentrasi yang diterapkan (15% b/v), tidak menunjukkan aktivitas terhadap *E.coli*. Pemisahan kromatografi kolom dengan eluen etil asetat : kloroform : n-heksana (4 : 2 : 2) diperoleh lima isolat namun hanya isolat C (Rf 0,58) yang memberikan hasil positif mengandung senyawa triterpen. Hasil uji kemurnian menunjukkan bahwa isolat relatif murni secara KLT. Hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer inframerah menunjukkan bahwa isolat diduga mengandung gugus fungsi –OH terikat, CH alifatik, C-H aldehid, C=O, C=C alifatik, dan C-O alkohol, serta memberikan puncak pada panjang gelombang 279,40 nm dengan absorbansi 0,714. Hasil uji isolat terhadap *E.coli* tidak menunjukkan aktivitas terhadap bakteri *E.coli*.

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

ABSTRACT

Isolation and identification of triterpene from the leaf of rain tree (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) and its activity against *Escherichia coli* (*E.coli*) has been performed. This research aims to determine the characteristics of triterpene contained in rain tree leaf and its activity against *E.coli*. Extraction was done by maceration and partition, separation was applied by column chromatography, its activity toward *E.coli* was tested by disk diffusion method, and the identification was done by UV-vis and FTIR. Around 1 kg of dry powder rain tree leaf was macerated with ethanol, producing 73,38 g of concentrated ethanol extract. Concentrated ethanol extract was dissolved with ethanol : water (3 : 7), then was evaporated to obtain water extract. The water extract was partitioned with n-hexane and chloroform, to obtained n-hexane, chloroform and water extracts. Those extracts were then phytochemically tested using Liebermann-Burchard reagent. Phytochemical test result showed that chloroform extract contained triterpene. N-hexane and chloroform extract were tested for its activity toward *E.coli*. Both extracts did not demonstrate antibacterial activity toward *E.coli* in the concentration applied (15% b/v). Separation using column chromatography with the eluent of ethylacetate : chloroform : n-hexane (4 : 4 : 2) obtained five isolates but only isolate C (Rf 0.58) which contained triterpene. The isolate was relatively pure by TLC. Analysis with infrared spectroscopy showed that the isolate contained functional groups of –OH bonded, –CH aliphatic, C-H aldehyde, C=O, C=C aliphatic, and C-O alcohol, and the ultraviolet-visible spectra showed maximum absorption at 279,40 nm. The isolate showed no activity toward *E.coli*.

Keywords : *Samanea saman* (Jacq.) Merr, triterpene, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Obat tradisional biasanya dapat digunakan untuk mengatasi masalah kesehatan yang disebabkan oleh bakteri. Sebagian besar tanaman obat menggunakan ramuan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan baik berupa akar, kulit batang, daun, bunga, ataupun biji (Achmad, 1986). Obat tradisional dapat digunakan untuk mengatasi masalah kesehatan yang disebabkan oleh bakteri, dimana untuk mengatasi masalah kesehatan tersebut diperlukan zat yang bersifat antibakteri. Antibakteri yaitu 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 yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* contohnya adalah diare (Melliawati, 2009). Pencegahan terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dapat memanfaatkan bahan aktif tanaman yang bersifat antibakteri atau yang menekan pertumbuhan bakteri *E.coli*. Tanaman trembesi dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri (Prasad *et al.*, 2008) dan secara tradisional tanaman ini dapat digunakan sebagai obat diare (Staples dan Elvetich, 2006). Daun trembesi berpotensi sebagai antibakteri *E. coli* oleh karena kandungan senyawanya adalah triterpen (Rita, 2010). Triterpen adalah senyawa metabolit sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat yang kemungkinan berpotensi sebagai antimikroba (Robinson, 1995).

Belum ada kajian ilmiah senyawa triterpen apa dalam daun trembesi yang mempunyai aktivitas antibakteri *E.coli*, untuk itu dalam tulisan ini dipaparkan bagaimana memisahkan senyawa triterpen dan menguji potensi aktivitasnya terhadap bakteri *E.coli*.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan daun trembesi diperoleh di Jalan Kapten Tantular, Renon, Denpasar Bali. Bahan

kimia yang digunakan adalah etanol 96%, n-heksana (p.a), kloroform (p.a), etil asetat (p.a), n-heksana (teknis), kloroform (teknis), etil asetat (teknis), etanol (teknis), silika gel GF₂₅₄, silika gel 60, KBr, NaCl, serbuk MHA (*Mueller Hinton Agar*), antibiotik *amoxicillin* 3,0 %, *meropenem* 10%, dan pereaksi Liebermann-Burchard.

Peralatan

Alat yang digunakan meliputi seperangkat alat gelas dengan berbagai ukuran, corong pisah, statif dan klem, pengaduk kaca, tabung reaksi, pipet tetes, blender, pisau, kain kasa, kertas saring Whatman No. 1, aluminium foil, penguap vakum, seperangkat alat Kromatografi lapis tipis (KLT), Kromatografi kolom, Spektrofotometer UV-vis dan Spektrofotometer Inframerah

Cara Kerja

Sebanyak 1 kg serbuk kering daun trembesi dimaserasi dengan 5L etanol 96%. Sekitar 73 g ekstrak pekat etanol yang diperoleh kemudian dilarutkan dengan etanol : air (3 : 7), kemudian etanolnya diuapkan sehingga tersisa ekstrak air. Ekstrak air ini dipartisi berturut-turut dengan menggunakan pelarut n-heksana, dan kloroform menghasilkan 26,4 g ekstrak n-heksana dan 12,56 g ekstrak kloroform. Masing-masing ekstrak yang diperoleh diuji kandungan triterpen dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan aktivitasnya sebagai antibakteri *E.coli*. Ekstrak positif triterpen selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : kloroform : n-heksana (4 : 4 : 2). Isolat positif triterpen selanjutnya dilakukan uji aktivitasnya terhadap *E.coli* dan diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-vis dan inframerah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Trembesi

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kloroform positif mengandung triterpen karena saat penambahan pereaksi warna menunjukkan adanya perubahan warna yang khas untuk senyawa triterpen, sedangkan ekstrak n-heksana tidak menunjukkan perubahan warna yang mengindikasikan mengandung senyawa triterpen.

Uji Aktivitas Ekstrak Daun Trembesi terhadap *E.coli*

Hasil uji aktivitas ekstrak n-heksana dan kloroform terhadap *E.coli* terhadap dipaparkan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri Ekstrak Daun Trembesi dalam Konsentrasi 15% (b/v)

Ekstrak uji	Daya hambat (mm)
Ekstrak n-heksana	-
Ekstrak kloroform	-
Kontrol positif (<i>meropenem</i> 10g)	+
Kontrol negatif	-

Keterangan kategori daya hambat bakteri menurut Davis Stout (Ardiansyah, 2004):

Daya hambat >20 mm	= sangat kuat
Daya hambat 10-20 mm	= kuat
Daya hambat 5-10 mm	= sedang
Daya hambat <5	= lemah

Berdasarkan Tabel 1, ekstrak n-heksana dan kloroform daun trembesi tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji. Kontrol positif yang digunakan adalah *meropenem* dengan konsentrasi 1,0 %. Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut n-heksana dan kloroform seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

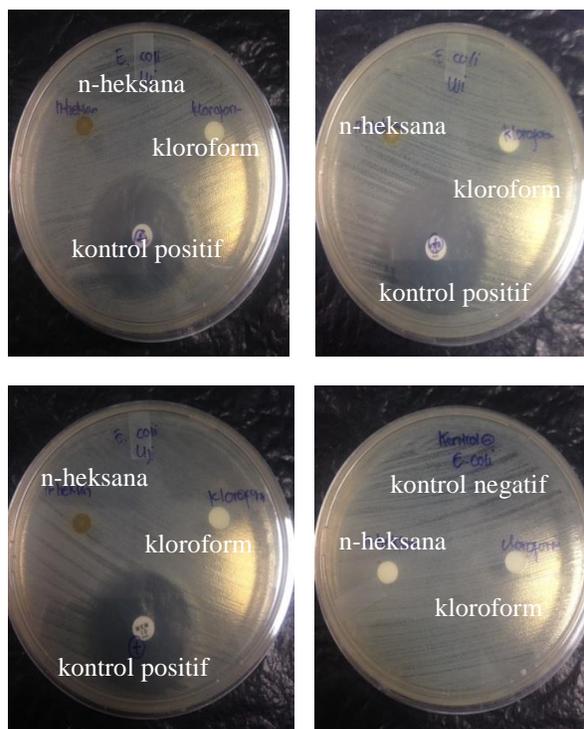
Hasil pengujian aktivitas ekstrak daun trembesi terhadap *E.coli* seperti yang dipaparkan dalam Tabel 1 dan Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana dan ekstrak kloroform daun trembesi dalam konsentrasi 15% (b/v) tidak menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Hal ini mungkin disebabkan bahwa dalam ekstrak kloroform masih mengandung campuran senyawa yang bersifat antagonis.

Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Triterpen

Pemisahan dengan kromatografi kolom menghasilkan 60 botol eluat. Eluat yang dihasilkan dilakukan KLT analitik untuk melihat kesamaan noda yang dihasilkan. Fraksi-fraksi yang memiliki pola noda yang sama kemudian digabungkan sehingga menghasilkan 5 fraksi dengan pola noda yang sama, yaitu fraksi A, B, C, D, dan E. Fraksi-fraksi tersebut kemudian diuji triterpen.

Berdasarkan hasil uji triterpen fraksi C menunjukkan hasil positif triterpen sedangkan

fraksi yang lain menunjukkan hasil negatif. Fraksi C relatif murni secara KLT dan selanjutnya isolat ini diidentifikasi berdasarkan data spektra UV-vis dan inframerah serta diuji aktivitasnya terhadap *E.coli*.



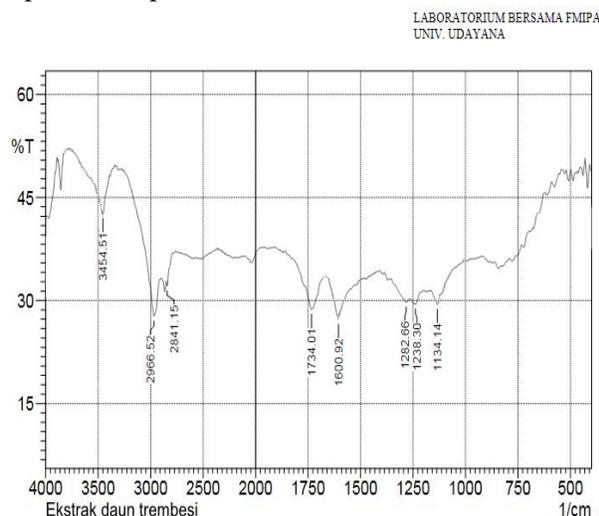
Gambar 1. Hasil uji aktivitas ekstrak n-heksana dan ekstrak kloroform daun trembesi terhadap *E.coli* pada konsentrasi 15% b/v

Hasil identifikasi senyawa isolat C dengan spektrofotometer inframerah (Gambar 2) menunjukkan adanya serapan yang tajam dan intensitasnya lemah yaitu pada daerah bilangan gelombang $3454,51 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus O-H terikat pada gugus alifatik dan aromatik yang disebabkan adanya vibrasi ikatan hidrogen intramolekul. Hasil spektra yang muncul pada bilangan gelombang $2966,52 \text{ cm}^{-1}$ dengan bentuk pita serapan tajam dengan intensitas sedang menunjukkan adanya gugus CH alifatik. Serapan yang tajam juga terdapat pada bilangan gelombang $2841,15 \text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas sedang menunjukkan adanya gugus C-H aldehyd. Adanya spektrum pada bilangan gelombang $1734,01 \text{ cm}^{-1}$ dengan bentuk pita melebar dan intensitas sedang

menunjukkan adanya gugus C=O. Serapan yang melebar juga terdapat pada bilangan gelombang 1600,92 cm^{-1} dengan intensitas lemah menunjukkan adanya gugus C=C alifatik. Serapan yang melebar juga terdapat pada bilangan gelombang 1282,66 cm^{-1} ; 1238,30 cm^{-1} dan 1134,11 cm^{-1} dengan intensitas sedang menunjukkan adanya gugus C-O alkohol (Sastrohamidjojo, 2001). Hasil analisis spektrum inframerah terhadap isolat C diduga mengandung gugus-gugus fungsi antara lain O-H terikat, -CH alifatik, C-H aldehid, C=O, C=C alifatik, dan C-O alkohol.

Identifikasi Senyawa Golongan Triterpen dengan Spektrofotometer UV-vis dan IR

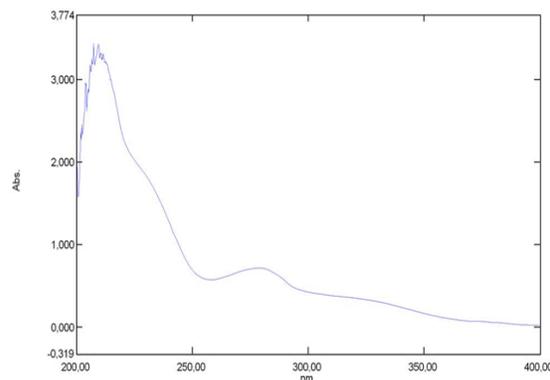
Hasil spektrum inframerah pada isolat C dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektra inframerah hasil identifikasi isolat C

Hasil analisis isolat C dalam metanol dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis memberikan satu puncak serapan. Spektra spektrofotometri UV-vis dari isolat C ditunjukkan pada Gambar 3.

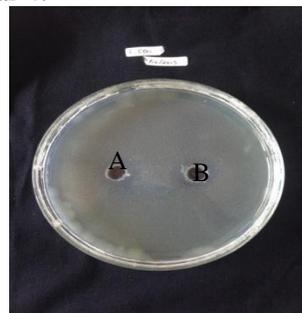
Spektra pada Gambar 3 menunjukkan bahwa puncak pada panjang gelombang 279,40 nm dengan absorbansi 0,714 kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron dari $n \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan oleh adanya ikatan rangkap C=O.



Gambar 3. Spektra UV-Vis isolat C

Uji Aktivitas Isolat Triterpen terhadap *E.coli*

Hasil uji aktivitas isolat triterpen disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil uji aktivitas isolat C terhadap *E.coli*

Keterangan: A = eluen/kontrol negatif = 1,875 mm
B = isolat C = 1,725 mm

Gambar 4 menunjukkan bahwa isolat C tidak menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Kemungkinan sifat antibakteri dari daun trembesi tidak disebabkan oleh triterpen tetapi senyawa lain. Rita, dkk. (2015) melaporkan bahwa senyawa flavonoid dalam daun trembesi bersifat antibakteri terhadap *E.coli* dengan aktivitas lemah, sedangkan Sari dkk. (2014) melaporkan bahwa isolat tanin dalam daun trembesi mampu menghambat *E.coli* dengan aktivitas sedang dan lemah. Jadi kemungkinan sifat antibakteri dari ekstrak kasar daun trembesi diakibatkan adanya sifat sinergisitas dari senyawa-senyawa daun trembesi.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Salah satu komponen kimia dalam ekstrak kloroform daun trembesi kemungkinan adalah senyawa golongan triterpen dengan karakteristik gugus fungsi O-H terikat, -CH alifatik, C-H aldehid, C=O, C=C alifatik, dan C-O alkohol.
2. Senyawa triterpen ini tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri *E.coli*, pada konsentrasi 15% (b/v).

Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri *E.coli* terhadap kandungan metabolit sekunder lain seperti alkaloid, steroid, dan saponin yang terdapat dalam daun trembesi.
2. Perlu dilakukan penelitian dan identifikasi lebih lanjut menggunakan teknik spektroskopi lainnya seperti NMR untuk memastikan struktur senyawa triterpen yang terdapat pada daun trembesi

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sampaikan ucapan terima kasih kepada I Wayan Suirta, Ni Wayan Bogorani dan Ni Komang Ariati. Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada tim Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Laboratorium Bersama FMIPA Universitas Udayana dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana yang telah memberikan bantuan dan dukungan fasilitas hingga penelitian ini selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad.S.A., 1986, *Kimia Organik Bahan Alam*. Universitas Terbuka, Jakarta.
- Ardiansyah, 2004, *Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*, Berita IPTEK. com. Diakses tanggal 24 Agustus 2013.
- Goldberg HS., 1959, *Antibiotics: Their Chemistry and Non-Medical Uses*, Van Nostrand Company, New York.
- 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.
- Rita, W.S., 2014, Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman Jacq*) sebagai Penghambat Pertumbuhan *Fusarium solani*, Penyebab Penyakit Busuk Batang pada Buah Naga (*Hylocereus sp.*). Disertasi.
- Rita, W.S., Suteja, I K.P., Asih., I.A.R.A., Swantara, I M.D., Gunawan, I W.G., 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Trembesi (*Albizia saman (Jacq) Merr*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*., *Proseding Senastek*, 30-31 Oktober 2015, Denpasar, Bali.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tanaman Tingkat Tinggi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Dasar-dasar spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta
- Staples, G.W. and Elevich, C.R. 2006. Species Profile for specific Island Agroferesty. *Samanea Saman (Rain Tree)* (Serial on line). [Cited 2011 November 4]. Available from: www.traditionaltree.org