

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
SENYAWA GOLONGAN TRITERPENOID PADA
RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe)**

Wiwik Susanah Rita

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid pada rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). Maserasi 600 g serbuk kering rimpang temu putih dengan pelarut n-heksana dan etanol secara berturut-turut menghasilkan 9,79 g ekstrak kental n-heksana dan 23,45 g ekstrak kental etanol. Ekstrak kental etanol yang positif mengandung triterpenoid dilarutkan dalam etanol-air (7:3), etanolnya diuapkan kemudian dipartisi dengan kloroform sehingga dihasilkan ekstrak kloroform dan ekstrak air. Hasil uji fitokimia menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan bahwa ekstrak kental n-heksana dan kloroform positif mengandung triterpenoid dan dari uji aktivitas antibakteri, hanya ekstrak kloroform pada konsentrasi 1000 ppm yang aktif sebagai antibakteri dengan diameter hambat sebesar 2 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pemisahan ekstrak kental kloroform dengan kromatografi kolom menghasilkan 0,44 g isolat positif triterpenoid (fraksi F₁) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan daya hambat yang lemah pada konsentrasi 500 ppm dan 1000 ppm. Hasil identifikasi menggunakan spektrofotometri inframerah menunjukkan bahwa isolat kemungkinan termasuk senyawa golongan triterpenoid asam karboksilat, dengan karakteristik gugus fungsi –OH terikat, –CH, C=O asam karboksilat, –C=C, –CH₂, –CH₃, dan C–O alkohol, serta memberikan serapan maksimum di daerah UV-vis pada panjang gelombang 242 nm dan serapan landai pada panjang gelombang 280 nm.

Kata kunci : *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe, triterpenoid, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Isolation, identification, and antibacterial activity examination of triterpenoid compounds from rhizome of *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe have been conducted. Maseration of 600 g dry powder of those rhizome using n-hexane and ethanol respectively yielded 9,79 g of n-hexane extract and 23,45 g of ethanol extract. The ethanol extract containing triterpenoids was dissolved into ethanol-water (7:3) mixture. The mixture was evaporated to remove the ethanol and then partitioned by chloroform. Hence, two extract were produced i.e., chloroform and water extract. The n-hexane and chloroform extracts obtained contained triterpenoids based on fitochemical test of Lieberman-Burchard. Antibacterial test showed that only chloroform extract was active with inhibition zone of 2 mm for *Staphylococcus aureus*.

Compound separation of the chloroform extract using column chromatography produced 0,44 g brown isolate which contained triterpenoids (fraction F₁). The isolate inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with weak inhibition zone at 500 ppm and 1000 ppm. Infrared spectra indicated that the isolate was a carboxylic acids triterpenoids, with characteristic functional groups of –OH bonded, –CH, C=O of carboxylic acids, –C=C, –CH₂, –CH₃, and C–O alcohol. The ultraviolet-visible spectra showed maximum absorption at 242 nm and 280 nm.

Keywords : *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe, triterpenoids, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Tumbuhan dari suku temu-temuan (*Zingiberaceae*) telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Famili *Zingiberaceae* yang tumbuh di dunia diperkirakan terdiri dari 47 genus dan 1400 spesies, baik yang tumbuh di daerah tropika maupun subtropika. Delapan spesies diantaranya terdapat di Indonesia dan banyak digunakan sebagai bahan obat, salah satunya adalah temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe) (Rukmana, 1994).

Seluruh bagian tanaman temu putih mulai dari daun, bunga, rimpang muda, dan rimpang tua dapat dimanfaatkan sebagai obat seperti maag, ambeien, radang tenggorokan, radang hati, amandel, nyeri haid, keputihan, jerawat, bisul, obat stimulan, obat cacing, obat diare, antivirus, pelega perut, batuk, nyeri dada, gangguan pencernaan, melancarkan peredaran darah, kanker (serviks, ovarium, paru, hati, payudara, leukemia), serta gangguan paru-paru diantaranya asma, TBC, dan bronchitis (Anonim, 2004; Anonim, 2005; Hembing, 2005; Satya, 2007). Pemanfaatan temu putih sebagai obat diare dan disentri juga dilaporkan Depkes RI dalam SP. No.383/12.01/1999 (Syukur, 2004) dan didukung oleh hasil penelitian Puslitbang Bio Medis dan Farmasi yang menunjukkan bahwa jus temu putih mempunyai efek sebagai obat diare, setelah dilakukan uji terhadap tikus putih jantan (Nuratmi, *et al.*, 2007).

Rimpang temu putih mengandung 1,0-2,50% minyak atsiri yang terdiri dari monoterpen yang berkhasiat sebagai antineoplastik (antikanker) dan telah terbukti dapat menonaktifkan pertumbuhan sel kanker payudara dan seskuiterpen sebagai komponen utamanya. Minyak atsiri tersebut mengandung lebih dari 20 komponen, diantaranya kurzerenon (zedoarin) yang merupakan komponen terbesar, kurkumin yang berkhasiat sebagai anti radang dan antioksidan yang dapat mencegah kerusakan gen, epikurminol yang berkhasiat sebagai antitumor, kurkuminol yang berkhasiat sebagai hepatoprotektor (pelindung hati), dan zingiberen (Dalimartha, 2003; Novalina, 2003). Selain minyak atsiri, dalam temu putih juga terkandung zat pati, damar, mineral, lemak, saponin,

flavonoid, polifenol, dan triterpenoid (Anonim, 2004; Hembing, 2005; Syukur, 2004).

Setelah dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak etanol rimpang temu putih, diketahui bahwa rimpang temu putih mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, polifenol, dan triterpenoid sebagai komponen utama (mayor), yang secara kualitatif dapat dilihat dari intensitas warna yang dihasilkan dengan pereaksi uji fitokimia. Senyawa golongan triterpenoid juga ditemukan pada Honje (*Amomum heyneanum*) yang satu famili dengan temu putih (Rosita, *et al.*, 2007). Berdasarkan kaidah kemotaksonomi bahwa tumbuhan dari genus atau famili yang sama kemungkinan mengandung senyawa dengan kerangka struktur yang mirip, maka dalam penelitian ini dicoba untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa golongan triterpenoid dari rimpang temu putih. Berdasarkan pemanfaatan dari rimpang temu putih yang salah satunya sebagai obat diare, maka dalam penelitian ini juga akan dilakukan uji antibakteri untuk mengetahui aktivitas senyawa golongan triterpenoid tersebut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe yang dibeli di pasar Badung sekitar bulan Januari tahun 2008. Bahan kimia yang digunakan adalah n-heksana (p.a dan teknis), etanol (p.a dan teknis), kloroform (p.a dan teknis), asam sulfat (H_2SO_4) pekat, anhidrida asetat p.a, silika gel GF₂₅₄, silika gel 60, kalium bromida (KBr), akuades, dan etil asetat p.a.

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain blender, toples, neraca analitik, kertas saring, gelas beker, gelas ukur, pipet ukur, pipet volum, labu ukur, batang pengaduk, corong pisah, botol vial, *ball filler*, alat pemanas, penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*), seperangkat alat kromatografi (KLT

dan Kolom), lampu UV, spektrofotometer UV-Vis serta spektrofotometer IR.

Cara Kerja

Irisan rimpang temu putih dicelupkan ke dalam etanol mendidih kemudian dikeringkan dan dihaluskan. Serbuk kering rimpang temu putih sebanyak 600 g diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan n-heksana sampai serbuk terendam semuanya. Ekstrak n-heksana yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana. Setelah itu, ampasnya dimaserasi kembali dengan etanol kemudian pelarutnya diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sampai kental serta diuji kandungan triterpenoidnya. Jika ekstrak kental etanol positif triterpenoid, maka ekstraksi dilanjutkan dengan cara ekstrak kental etanol ditambahkan campuran etanol-air (7:3) dan pelarut etanolnya diuapkan, selanjutnya dipartisi dengan pelarut kloroform. Ekstrak kloroform yang diperoleh diuapkan sampai kental. Ekstrak kental n-heksana, kloroform, dan ekstrak air yang diperoleh masing-masing diuji kandungan triterpenoidnya dengan pereaksi Lieberman-Burchard serta diuji aktivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Ekstrak kental yang positif triterpenoid dianalisis menggunakan KLT untuk mencari eluen terbaik yang digunakan dalam kromatografi kolom. Eluat hasil kromatografi kolom ditampung setiap 3 mL dalam botol vial dan setiap eluat yang diperoleh, dianalisis pola pemisahannya dengan menggunakan KLT. Eluat dengan pola pemisahan (harga R_f) yang sama digabungkan sehingga diperoleh kelompok fraksi dengan pola pemisahan yang sama. Setiap kelompok fraksi tersebut diuji dengan pereaksi Lieberman-Burchard dan fraksi yang positif triterpenoid dilanjutkan dengan proses pemurnian secara KLT pada berbagai campuran

eluen. Isolat relatif murni yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi dengan spektrofotometer inframerah dan UV-Vis serta diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Maserasi 600 g serbuk kering rimpang temu putih dengan pelarut n-heksana dan etanol secara berturut-turut menghasilkan 9,79 g ekstrak kental n-heksana dan 23,45 g ekstrak kental etanol. Ekstrak kental etanol yang positif mengandung triterpenoid dilarutkan dalam etanol-air (7:3), etanolnya diuapkan kemudian dipartisi dengan kloroform sehingga dihasilkan 21,97 g ekstrak kental kloroform yang berwarna coklat tua dan 1,48 g ekstrak air yang berwarna oranye. Hasil uji fitokimia menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan bahwa ekstrak kental n-heksana dan kloroform positif mengandung triterpenoid dan dari uji aktivitas antibakteri, hanya ekstrak kloroform pada konsentrasi 1000 ppm yang aktif sebagai antibakteri dengan diameter hambat sebesar 2 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Oleh karena itu ekstrak kloroform dilanjutkan ke tahap pemisahan dan pemurnian.

Pemisahan 1,02 g ekstrak kental kloroform dengan kromatografi kolom menggunakan campuran eluen n-heksana : etil asetat (1 : 1) dan fase diam silika gel 60 sebanyak 100 g, menghasilkan 149 eluat. Pola pemisahan dari ke-149 eluat tersebut diamati menggunakan KLT penggabungan dimana eluat yang memiliki pola pemisahan yang sama digabungkan, sehingga diperoleh 4 kelompok fraksi. Setiap kelompok fraksi yang diperoleh diuji kandungan triterpenoidnya menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard. Hasil uji triterpenoid dari keempat fraksi dipaparkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji triterpenoid pada masing-masing fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom

Fraksi	Banyaknya noda	Perubahan warna terhadap pereaksi LB (anhidrida asetat-H ₂ SO _{4p})	Keterangan
F ₁ (botol 3-15)	1	Coklat menjadi merah ungu	+++
F ₂ (botol 16-18)	3	Coklat kekuningan menjadi ungu	+
F ₃ (botol 19-47)	2	Coklat kekuningan menjadi merah ungu	++
F ₄ (botol 48-149)	1	Coklat menjadi ungu	+

Keterangan : (+) = Intensitas warna lemah
 (++) = Intensitas warna sedang
 (+++) = Intensitas warna kuat

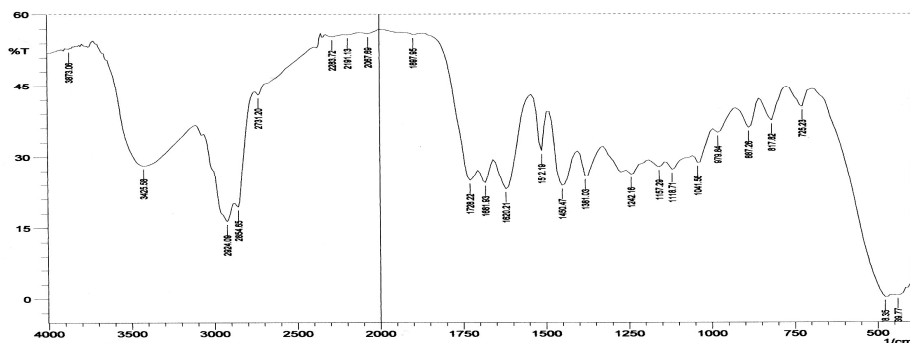
Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa keempat fraksi positif mengandung senyawa golongan triterpenoid. Namun fraksi yang dilanjutkan untuk analisis lebih lanjut adalah fraksi F₁, karena fraksi F₁ terdiri dari satu komponen senyawa serta secara kualitatif lebih banyak mengandung senyawa triterpenoid yang dapat dilihat dari intensitas perubahan warna yang dihasilkan terhadap pereaksi LB. Oleh karena itu fraksi F₁ diuji kemurniannya dengan teknik KLT.

Hasil uji kemurnian menunjukkan bahwa fraksi F₁ tetap menunjukkan noda tunggal dengan berbagai campuran eluen yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi F₁ relatif murni secara KLT.

Isolat yang relatif murni selanjutnya diidentifikasi dengan spektrofotometer IR. Spektrum serapan spektrofotometri IR dari isolat triterpenoid menggunakan pelet KBr ditunjukkan pada Gambar 1.

Data spektrum inframerah isolat triterpenoid (fraksi F₁) menunjukkan adanya

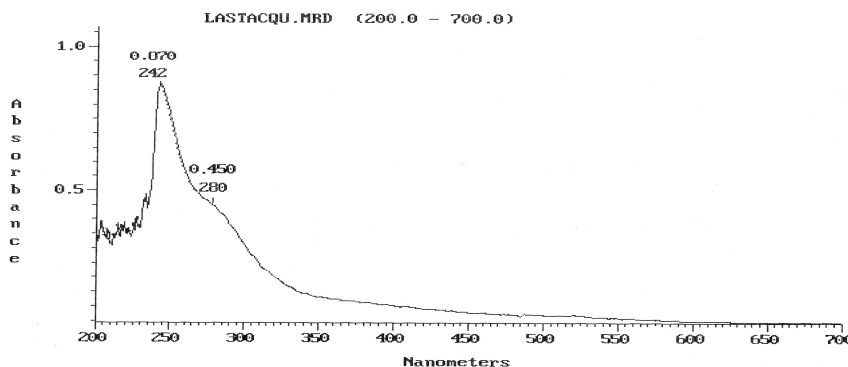
pita serapan melebar dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 3425,58 cm⁻¹ yang diduga serapan dari gugus -OH terikat. Adanya gugus -OH ini didukung dengan munculnya serapan kuat pada bilangan gelombang 1242,16 cm⁻¹ dari C-O alkohol. Pita serapan yang tajam dengan intensitas kuat pada bilangan gelombang 2924,09 cm⁻¹ dan 2854,65 cm⁻¹ diduga mengandung gugus -CH alifatik *stretching*. Dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1450,47 cm⁻¹ dan 1381,03 cm⁻¹ yang merupakan serapan dari -CH₂ dan -CH₃ *bending*. Serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1728,22 cm⁻¹ diduga karena adanya gugus fungsi C=O dari suatu asam karboksilat (Lambert, dkk, 1976), sedangkan munculnya pita serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1620,21 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus fungsi -C=C alifatik *stretching* (Silverstein, dkk, 1981; Sastrohamidjojo, 1991; Sastrohamidjojo, 1992).



Gambar 1. Spektrum spektrofotometri IR dari isolat triterpenoid menggunakan pelet KBr (FT-IR/P)

Hasil analisis isolat dalam etanol dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan dua puncak serapan. Spektrum spektrofotometri UV-Vis dari isolat ditunjukkan pada Gambar 2. Munculnya serapan maksimum pada panjang gelombang 242 nm diduga diakibatkan oleh adanya transisi elektron dari $n - \sigma^*$ yang disebabkan oleh adanya suatu kromofor

C=O. Hal ini didukung dari hasil analisis spektrofotometri inframerah yang menunjukkan isolat mempunyai gugus fungsi C=O pada daerah bilangan gelombang $1728,22 \text{ cm}^{-1}$. Serapan landai pada panjang gelombang 280 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron dari $n - \pi^*$ yang disebabkan oleh adanya ikatan rangkap C=O.



Gambar 2. Spektrum spektrofotometri UV-Vis dari isolat (fraksi F₁)

Hasil uji aktivitas antibakteri (Tabel 2) menunjukkan bahwa fraksi F₁ dengan konsentrasi 500 ppm dan 1000 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter hambat sebesar 1 mm dan 4 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* setelah pengurangan dengan kontrol pelarut yang dipakai, serta 0,5 mm dan 2 mm untuk bakteri *Escherichia coli*. Bila dibandingkan dengan

konsentrasi 30 μg tetracyclin yang mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat sebesar 27 mm dan 22 mm untuk bakteri *Escherichia coli*, maka dapat disimpulkan bahwa isolat triterpenoid dari ekstrak kloroform rimpang temu putih mempunyai aktivitas antibakteri yang lemah (Ardiansyah, 2004).

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap isolat (fraksi F₁) dalam pelarut etanol

No	Konsentrasi Bahan Uji	Diameter Hambatan (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	F ₁ (100 ppm)	0	0
2	F ₁ (500 ppm)	7	6.5
3	F ₁ (1000 ppm)	10	8
4	Kontrol (etanol)	6	6
5	Kontrol (tetracyclin 30 μg)	27	22

Tabel 3. Kategori daya hambat bakteri menurut Davis Stout

Daya hambat bakteri	Kategori
$\geq 20 \text{ mm}$	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
$\leq 5 \text{ mm}$	Lemah

Sumber : Ardiansyah, 2004

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa salah satu komponen dari empat komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak kental kloroform rimpang temu putih kemungkinan adalah senyawa golongan triterpenoid asam karboksilat dengan karakteristik gugus fungsi : -OH terikat, -CH, C=O asam karboksilat, -C=C, -CH₂, -CH₃, dan C-O alkohol. Isolat triterpenoid yang diperoleh mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 500 ppm dan 1000 ppm dengan daya hambat lemah sebesar 1 mm dan 4 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* serta 0,5 mm dan 2 mm untuk bakteri *Escherichia coli*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi isolat menggunakan GC-MS dan NMR, serta pengukuran titik leleh untuk menguji kemurniannya. Serta mengisolasi dan mengidentifikasi tiga komponen lain yang terkandung dalam ekstrak kloroform.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Ibu Sri Rahayu Santi, S.Si., M.Si. dan N. N. Yuni Aswindarti serta staf dosen di Jurusan Kimia atas bantuan dan sarannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, Apr. 7, 2007, <http://cuek.wordpress.com/2007/04/07/khasiat-tanaman/>, 15 Oktober 2007
- Ardiansyah, 2004, *Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*, Berita IPTEK. com
- Dalimartha, S., 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 3, Puspa Swara, Jakarta.
- Enjtang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi*, Pt. Citra Aditya Bakti, Bandung.
- Griter, R. J., Bobbitt, J. M., and Schwarting, A. E., 1991, *Pengantar Kromatografi*, Edisi Kedua, a.b. Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung.
- Harbone, J. B., 1987, *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisis Tanaman*, Jilid 2, a.b. Padmawinata, K., Penerbit ITB, Bandung.
- Lambert, J. B., Shurvell, H. F., Verbit, L., Cooks, G. R., and Stout, G. H., 1976, *Organic Structural Analysis*, Macmilan Publishing Co, Newyork.
- Lay, B. W., dan Hastowo, S., 1992, *Mikrobiologi*, CV. Rajawali, Jakarta.
- Mulja, dan Syahrani, 1990, *Aplikasi Analisis Spektrofotometri UV-vis*, Mechpiso Grafika, Surabaya.
- Noedin, D., 1986, *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*, Angkasa, Bandung.
- Noalina, Des. 13, 2003, tumoutou.net/702_07134/noalina.htm - 62k., 21 September 2007
- Nuratmi, B., Nugroho, Y. A., dan Sundari, D., Mar. 28, 2007, http://digilib.litbang.depkes.go.id/go.php?node=193_jkpkbppk-gdl-jou-2007-budinuratm-2443., 21 September 2007
- Pelczar, M. J, Jr., and Chan E. C. S, 1986, *Mikrobiologi Dasar*, Edisi Kelima, Jilid I, a.b. Sri, R. H., dkk, Universitas Indonesia-Press, Jakarta
- Pelczar, M.J, Jr., and Chan E.C.S, 1998, *Dasar-Dasar Mikrobiologi II*, a.b. : Ratna Sri Hadioetomo, dkk, Universitas Indonesia-Press, Jakarta
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tanaman Tingkat Tinggi*, Penerbit ITB, Bandung
- Rosita, Oti. R, E. R. Pribadi, dan Hernani, Jan. 1, 2007, http://balittro.litbang.deptan.go.id/pdf/buletin/vol_xviii_no_01_2007/vol_xviii_no_01_2007_02.pdf., 5 Agustus 2008
- Rukmana, R., 1994, *Kunyit*, Kanisius, Yogyakarta
- Satya, F.C., Mei. 2, 2007, <http://toiusd.multiply.com/journal/ite>

m/266/ Curcuma zedoaria., 29
Oktober 2007
Silverstin, Bassler and Morrill, 1981,
Identification of Organic

Coumpound, Fourth edition,
Singapore
Sudjadi, 1985, *Metode Pemisahan*, Penerbit
kanisus, Yogyakarta
Syukur, C., 2004, *Temu Putih Tanaman Obat*
Antikanker, Swadaya, Jakarta