

KARAKTERISASI FRAKSI AKTIF ANTIBAKTERI EKSTRAK DARI DAUN PEPE (*Gymnema reticulatum* Br)

I M. Dira Swantara¹⁾, I. B. Darmayasa²⁾, dan Sri lestari¹⁾

¹⁾*Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*

²⁾*Jurusan Biologi FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*

ABSTRAK

Isolasi dan karakterisasi fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri dari ekstrak daun pepe telah dilakukan. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan methanol 70%. Pemisahan ekstrak aktif antibakteri terhadap *Eschericia coli* dan *Stathylococcus aureus* dilakukan dengan partisi menggunakan pelarut petroleum eter, kloroform, dan etil asetat. Ekstrak yang paling aktif bersifat anti bakteri, yaitu ekstrak etil asetat dipisahkan dengan kromatografi kolom menggunakan campuran eluen kloroform, dan etil asetat dengan perbandingan 1:1. Fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom diuji bioaktivitas antibakterinya dan didapatkan hasil bahwa fraksi I paling aktif bersifat anti bakteri, selanjutnya fraksi I diidentifikasi menggunakan GC-MS.

Hasil kromatografi gas diperoleh tiga puncak dengan waktu retensi (menit) dan kelimpahan (%) berturut-turut sebagai berikut : puncak 1 (18,658 menit; 33,69%), puncak 2 (19,617 menit; 34,01%), dan puncak 3 (25,492 menit; 32,69%). Dari data tersebut diduga fraksi I mengandung 3 senyawa. Puncak 1 dengan ion molekul pada m/z 296, mempunyai puncak dasar pada m/z 68 identik dengan senyawa 3,7,11,15-tetrametil 2-hexadesena 1-ol, puncak 2 dengan ion molekul pada m/z 270, puncak dasar pada m/z 74 identik dengan senyawa ester metil hexadecanoat, dan puncak 3 dengan ion molekul pada m/z 390, puncak dasar pada m/z 149 identik dengan senyawa dioktil-1,2-benzenadikarboksilat.

Kata kunci : Isolasi, karakterisasi, *Eschericia coli*, *Stathylococcus aureus*, *Gymnema reticulatum* Br

ABSTRACT

Isolation and characterisation of antibacterial compounds in the leaves pepe have been carried out. Extraction was carried out by macerating using methanol and 70%. Separation of extracts which have activity to *Eschericia coli* and *Stathylococcus aureus* was conducted using the solvent partition by petroleum ether, chloroform, and ethyl acetate. The most active extract, the ethyl acetate extract was separated by column chromatography using a mixture eluent of chloroform, and ethyl acetate with a ratio of 1:1. The eluents were tested for their bioactivity as antibacterial agent and the results established that fraction 1 was the most active fraction. This next wing fraction 1 was then identified using GC-MS.

The gas chromatogram showed 3 peaks at 18.658 minutes (33.69%), 19.617 minutes (34.01%), and 25.492 minutes (32.69%). It was suggested that the fraction contains three compounds. The first peak has a molecular ion at m/z 296 with a base peak of 68, matches with the spectra of 3,7,11,15-tetramethyl 2-hexadecene-1-ol. The second peak, m/z 270 and 74, matches with the spectra of methyl hexadecanoate ester. The last peak has a molecular ion at 390 and base peak at 149, suggesting it is dioctyl-1,2-benzenedicarboxylate.

Keywords : Isolation, characterisation, *Eschericia coli*, *Stathylococcus aureus*, *Gymnema reticulatum* Br

PENDAHULUAN

Tumbuhan merupakan sumber bahan kimia terkaya. Berpuluh-puluh, bahkan beribu-ribu komponen kimia terkandung di dalamnya. Namun, hingga kini fungsi dan peran setiap komponen belum terungkap seluruhnya. Dari beberapa komponen kimia tersebut ada yang bersifat menyembuhkan penyakit sehingga banyak digunakan sebagai obat atau ramuan tradisional maupun sengaja diisolasi untuk dikembangkan sebagai obat modern (Kardinan, dan Taryono, 2003). Di bumi ini terdapat beranekaragam spesies tumbuhan. Keanekaragaman tumbuhan ini memacu peneliti bahan alam untuk lebih giat melakukan penelitian. Telah diketahui bahwa dalam tumbuhan terkandung senyawa-senyawa kimia yang membentuk metabolit primer seperti karbohidrat, protein, dan lemak. Senyawa metabolit primer ini selanjutnya mengalami biosintesis membentuk senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder inilah yang menyebabkan tumbuhan mempunyai aktivitas biologi sehingga tumbuhan mempunyai khasiat tertentu, seperti sebagai obat, pestisida, dan lain-lain (Kardinan, dan Taryono, 2003).

Penggunaan tumbuhan sebagai obat telah berkembang di Bali sejak zaman dahulu. Tumbuhan-tumbuhan yang mengandung khasiat obat tercatat dalam lontar usada. Kata usada berarti tumbuhan-tumbuhan yang mengandung khasiat obat (Putra, 1991 dan Sukersa, 1995). Sampai saat ini, lontar usada yang dimiliki dan dipergunakan oleh masyarakat Bali sangat banyak dan beragam. Tumbuhan yang tercatat dalam lontar usada yang sudah diidentifikasi sampai saat ini lebih dari 414 jenis yang meliputi nama lokal, famili, nama latin, dan khasiatnya (Anonim, 2001).

Salah satu tumbuhan dalam Usada Taru Premana yang tercatat memiliki khasiat obat adalah daun pepe (*Gymnema reticulatum* Br). Pepe merupakan tumbuhan yang berasal dari India. Tumbuhan ini tumbuh di belukar atau pagar. Pohonnya kecil, merambat, dan permukaan bawah daunnya berbulu. Banyak dikenal dengan sebutan lokal seperti di daerah Maluku: sayor, pepe, utamata. Daun pepe dalam pengobatan tradisional digunakan bersama-sama

dengan bahan lain dalam ramuan sebagai obat penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri yaitu sebagai obat muntaber (putra, 1991). Akar dapat digunakan sebagai obat rematik. Selain itu dapat juga digunakan sebagai obat cacangan pada anak, sakit kepala, panas dan gelisah, perut kembung pada anak dan tidak nafsu makan (Hutapea, 1994).

Berdasarkan penggunaan daun pepe secara tradisional sebagai obat penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri dan telah menunjukkan hasil positif (kemampuan menghambat) bioaktifitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*, maka diindikasikan bahwa dalam daun pepe mengandung senyawa yang bersifat sebagai antibakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa atau gabungan senyawa kimia yang aktif bersifat antibakteri pada daun pepe.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini adalah daun pepe (*Gymnema reticulatum* Br). Tumbuhan tersebut diambil di Banjar Bias, Desa Ababi, Kecamatan Abang, Karangasem, pada tanggal 20 Oktober 2007. Bahan-bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah: metanol (teknis), kloroform (p.a dan teknis), etil asetat (p.a dan teknis), aquades, natrium hidroksida (p.a), asam klorida (p.a), silika gel G.60, magnesium, asam sulfat, asam klorida, media *Nutrient broth*, *muller-Hunton*, Isolat *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, seperangkat alat gelas laboratorium, penguap putar vakum, kertas saring, pipet tetes, pipet mikro, pipet volume, botol tempat sampel, seperangkat alat KLT, autoklaf laminar air flow, seperangkat alat kromatografi kolom, lampu UV, cawan petri, dan seperangkat alat kromatografi gas-spektrometri massa.

Cara Kerja

Daun dari tumbuhan pepe dipotong kecil-kecil, kemudian dikering anginkan di udara terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah kering, dihaluskan sampai menjadi serbuk halus.

Sampel dalam bentuk serbuk kering ditimbang sebanyak kurang lebih 500 g, kemudian dimaserasi dengan metanol. Setiap 24 jam ekstrak tersebut disaring dan diganti pelarutnya dengan metanol yang baru. Ekstraksi ini dilakukan berulang sebanyak 5 kali sampai ekstrak terakhir tidak mengandung metabolit lagi. Filtrat metanol yang diperoleh dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Terhadap ekstrak tersebut dilakukan uji bioaktivitas antibakteri. Selanjutnya ekstrak dilarutkan ke dalam air sebanyak 200 mL. Ekstrak air tersebut dipartisi dengan petroleum eter (9 x 50 mL), lalu dipisahkan. Lapisan petroleum eter dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental petroleum eter (EP). Residu (lapisan air) dipartisi dengan kloroform (9 x 50 mL), lalu dipisahkan dan lapisan kloroform dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental kloroform (EK). Lapisan air dipartisi dengan etil asetat (9 x 50 mL) lalu dipisahkan. Lapisan etil asetat dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat (EE). Dari ketiga ekstrak tersebut kemudian dilakukan uji bioktivitas antibakterinya dengan menggunakan metode kirby dan bauner adapun langkah-langkahnya sebagai berikut:

Pembuatan suspensi bakteri

Sebanyak satu *loop* biakan murni bakteri uji diinokulasi dalam media *nutrient broth* (NB) sebanyak 50 mL dalam erlenmeyer. Biakan ini kemudian diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam (jumlah bakteri yang ada setara dengan 10^8 sel/mL).

Uji aktivitas antibakteri

Penyiapan media padat yang berisi bakteri dilakukan dengan cara memipet 1 mL suspensi biakan bakteri dimasukkan kedalam cawan Petri yang sudah steril kemudian dituangkan 15 mL muller-hunton (temperatur 40-48°C) lalu digoyang secara simultan untuk mendapatkan pertumbuhan bakteri yang merata.

kemudian diamkan sampai membeku pada temperatur kamar.

Setelah beku agar dilubangi dengan alat pembolong steril. Sampel dimasukkan ke dalam masing-masing lubang sebanyak 20 μ L, lalu didiamkan sementara kemudian diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam, dan sebagai kontrol digunakan pelarutnya. Dalam uji ini, hasil positif ditandai dengan terbentuknya daerah bening/zona bening disekitar lubang.

Ekstrak yang menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling positif, selanjutnya difraksinasi menggunakan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah silika gel dengan eluen yang sesuai berdasarkan hasil KLT.

Fase gerak kromatografi kolom terbaik dicari dengan menggunakan KLT. Pelat yang digunakan adalah pelat KLT silika gel GF₂₅₄. Pemisahan komponen dilakukan dalam bejana kromatografi yang telah berisi eluen setinggi 0,5 cm. Sebelum digunakan, bejana kromatografi dijenuhkan terlebih dahulu. Setelah jenuh, pelat KLT dimasukkan ke dalam bejana kromatografi secara vertikal dengan titik penotolan sampel sedikit di atas permukaan eluen, lalu bejana ditutup kembali. Elusi dibiarkan berlangsung sehingga cairan pengembang mencapai tanda batas, kemudian pelat diangkat dan dibiarkan kering pada temperatur kamar. Untuk menampakkan nodanya dapat dilakukan di bawah lampu UV atau uap iodium. Eluen yang menghasilkan pemisahan yang terbaik digunakan sebagai fase gerak dalam kromatografi kolom

Pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel sebagai fase diam dan pelarut terbaik hasil KLT sebagai fase gerak. Bubur silika dibuat dengan mensuspensikan silika gel sebanyak kurang lebih 50,04 g ke dalam campuran pelarut terbaik yang diperoleh dari hasil KLT. Campuran ini diaduk sampai homogen, setelah itu dimasukkan ke dalam kolom yang panjangnya 28 cm dan diameternya 2 cm. Campuran ini didiamkan selama 24 jam agar diperoleh kolom yang homogen dengan tinggi eluen di atas tinggi bubuk silika tersebut.

Sampel dimasukkan ke dalam kolom dan dielusi dengan campuran pelarut terbaik hasil KLT. Kecepatan eluen diatur sedemikian rupa sehingga kecepatan menetesnya sekitar 3 mL/5

menit. Fraksi ditampung setiap 3 mL dalam botol kecil yang telah disediakan.

Masing-masing eluat pada botol penampung di KLT menggunakan eluen yang sesuai, kemudian pelat KLT dideteksi nodanya. Eluat yang menunjukkan pola noda yang sama digabungkan sehingga diperoleh beberapa fraksi. Terhadap semua fraksi yang diperoleh dilakukan uji bioaktivitas antibakteri sampai diperoleh fraksi yang paling aktif. Fraksi yang paling aktif ini kemudian diuji kemurniannya yang selanjutnya akan diidentifikasi menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Metabolit

Serbuk kering sampel sebanyak 500 gram dimaserasi dengan metanol 70 %. Maserasi dilakukan sebanyak 5 x 500 mL. Ekstrak metanol dievaporasi dengan penguap putar vakum lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sehingga diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 27,54 gram. Ekstrak kental metanol ini diuji bioaktivitas antibakterinya.

Uji Bioaktivitas Antibakteri

Ekstrak kental metanol daun pepe yang diujikan bioaktivitasnya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* menunjukkan hasil positif, yang berarti bahwa ekstrak kasar tersebut mempunyai kemampuan dalam menghambat kedua bakteri yang diujikan. Rata-rata diameter daya hambat ekstrak kasar daun pepe terhadap bakteri *Eschericia coli* sebesar 3,16 mm ini lebih besar daripada terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 0,91 mm. Pada kontrol hanya diberikan metanol saja dan tidak menunjukkan adanya daya hambat pada kedua bakteri uji (disajikan pada tabel 1). perbedaan daya hambat terhadap kedua bakteri yang diujikan pada konsentrasi 100 ppm kemungkinan disebabkan oleh perbedaan sifat dari bakteri tersebut.

Tabel 1. Rata-rata diameter zone hambatan ekstrak kasar metanol daun pepe pada konsentrasi 100 ppm terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada media M-H (muller-Hunton)

Nama sampel	Daerah Inhibisi (mm) rata-rata terhadap	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Eschericia coli</i>
Ekstrak metanol	0,91	3.16
Kontrol	0,00	0.00

Partisi Sampel

Ekstrak kental metanol dari daun pepe sebanyak 27,54 gram dilarutkan ke dalam 200 mL aquades, kemudian dipartisi berturut-turut dengan petroleum eter, kloroform, dan etil asetat masing-masing sebanyak 9 x 50 mL. Hasil partisinya disajikan pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil partisi beberapa pelarut dari ekstrak metanol daun pepe

Pelarut	Berat Kering Ekstrak (gram)	Warna
Petroleum eter	2,44	Hijau tua
Kloroform	1,94	Hijau kecoklatan
Etil asetat	1,24	Hijau kehitaman

Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Hasil Partisi

Daya hambat Ekstrak kental hasil partisi terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil yang bervariasi. Hasil partisi dari pelarut petroleum eter, kloroform dan etil asetat semua mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aereus* dan *Eschericia coli* akan tetapi terhadap bakteri *Eschericia coli* hanya petroleum eter saja menunjukkan hasil negatif. Data selengkapnya disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji bioaktivitas antibakteri ekstrak metanol hasil partisi

No	Nama Sampel	Daerah Inhibisi (mm) rata-rata terhadap	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1.	Kontrol petroleum eter	0,60	0,60
2.	Ekstrak petroleum eter	0,90	0,60
3.	Kontrol kloroform	0,60	0,60
4.	Ekstrak kloroform	1,00	0,80
5.	Kontrol etil asetat	0,00	0,00
6.	Ekstrak etil asetat	0,84	1.50

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa pelarut etil asetat merupakan pelarut yang baik untuk mendapatkan bahan aktif dari daun pepe yang mempunyai kemampuan menghambat kedua bakteri uji. Dimana rata-rata diameter zone hambatan sebesar 0,84 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan 1,5 mm terhadap bakteri *Eschericia coli*, rata-rata ini jauh lebih besar jika dibandingkan dengan rata-rata diameter zone hambatan dari pelarut yang lain. Oleh karena itu ekstrak etil asetat dilanjutkan ketahap berikutnya yaitu kromatografi kolom.

Mencari Eluen Terbaik Kromatografi Kolom

Mencari eluen terbaik untuk kromatografi kolom digunakan kromatografi lapis tipis. Sebagai fase diam adalah *silica gel GF₂₅₄* dan fase gerak adalah campuran berbagai pelarut dengan cara coba-coba. Beberapa campuran eluen yang digunakan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pemilihan eluen terbaik untuk kolom

No.	Nama Eluen	Jumlah Noda
1.	Kloroform	3 (2 berekor)
2.	Etil asetat	4 (3 berekor)
3.	Etil asetat : Kloroform(3:7)	5 (3 berekor)
4.	Etil asetat : Kloroform(9:1)	5 (2 berekor)
5.	Etil asetat : Kloroform(1:1)	4

Data tersebut di atas menunjukkan bahwa campuran eluen etil asetat : kloroform (1:1) memberikan noda yang paling baik, sehingga dapat digunakan dalam kromatografi kolom.

Pemisahan dan Pemurnian

Pemisahan dan pemurnian ekstrak kental etil asetat dilakukan dengan cara kromatografi kolom. Sebagai fase diam adalah silika gel G 60 sebanyak kurang lebih 50 gram dan fase gerak adalah campuran etil asetat dan kloroform dengan perbandingan 1:1. Sebanyak kurang lebih 1 gram ekstrak kental etil asetat dipisahkan dengan kromatografi kolom. Panjang kolom yang digunakan adalah 28 cm dan diameternya 2 cm. Kecepatan penetesan eluen diatur kira-kira 3 mL/5 menit. Eluat ditampung setiap 3 mL sampai dihasilkan 159 botol. Semua eluat yang diperoleh, di kromatografi lapis tipis menggunakan eluen etil asetat:kloroform (1:1). Berdasarkan pola noda masing-masing eluat, diperoleh 6 fraksi seperti disajikan pada Tabel 5 sebagai berikut :

Tabel 5. Hasil kromatografi kolom ekstrak etil asetat

No	Fraksi	Jumlah Noda	Warna
1.	I(22-31)	1	Hijau kekuningan
2.	II(32-51)	2	Hijau kekuningan
3.	III(52-66)	2	Kuning tua
4.	IV(67-76)	1	Kuning kehijauan
5.	V(77-90)	1	Kuning
6.	VI(91-159)	1	Kuning muda

Uji Bioktifitas Antibakteri dari masing-masing Fraksi

Keenam fraksi yang diperoleh dari hasil kromatografi kolom diuji bioaktivitas antibakterinya. Hasil uji antibakteri tersebut disajikan pada Tabel 6.

Hasil uji aktivitas antibakteri pada Tabel 6 menunjukkan bahwa hanya fraksi I yang aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, tetapi fraksi ini tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Demikian juga dengan fraksi II, III, IV, V, VI semuanya tidak menghambat pertumbuhan

bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Dengan demikian ekstrak daun pepe hanya aktif menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* saja.

Tabel 6. Hasil uji bioaktivitas antibakteri keenam fraksi

No	Nama Fraksi	Daerah Inhibisi (mm) rata-rata terhadap	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1.	I	0,00	0,70
2.	II	0,00	0,00
3.	III	0,00	0,00
4.	IV	0,00	0,00
5.	V	0,00	0,00
6.	VI	0,00	0,00
	kontrol	0,00	0,00

Uji Kemurnian

Selanjutnya fraksi I yang paling aktif bersifat antibakteri, diuji kemurniannya menggunakan KLT dengan beberapa

pengembang. Hasil uji kemurnian fraksi I disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji kemurnian fraksi I

No.	Pengembang	Jumlah noda
1.	Etil asetat : kloroform(9:1)	1
2.	Etil asetat : Kloroform(7:3)	1
3.	Etil asetat : petroleum eter(9:1)	1

Berdasarkan hasil KLT dengan menggunakan berbagai eluen dihasilkan satu noda. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi I sudah relatif murni secara KLT sehingga dapat dilanjutkan dengan uji fitokimia dan identifikasi dengan GC-MS.

Identifikasi isolat aktif dengan uji warna (Uji fitokimia)

Uji fitokimia dilakukan terhadap fraksi I yang paling aktif bersifat antibakteri dan murni secara KLT dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa triterpenoid/steroid, alkaloid, flavonoid. Hasil uji tersebut disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji fitokimia terhadap fraksi I

No.	Uji Fitokimia	Pereaksi	Warna	Kesimpulan
1	Flavonoid	NaOH HCl + Mg H ₂ SO ₄	Hijau muda	Negatif
2	Alkaloid	Meyer Dragendrof wagner	Endapan putih Tidak ada perubahan Tidak ada perubahan	Positif Negatif Negatif
3	Triterpenoid / Steroid	Liebermen-Burchard H ₂ SO ₄ 50 % H ₂ SO ₄ pekat	Coklat Tidak ada perubahan Coklat	Negatif Negatif Negatif

Berdasarkan data di atas dapat disimpulkan bahwa pada uji alkaloid hanya pereaksi meyer saja yang menunjukkan hasil positif. Hal ini menunjukkan bahwa dalam fraksi tersebut keberadaan alkaloid dikatakan negatif karena hanya satu peaksi saja yang aktif.

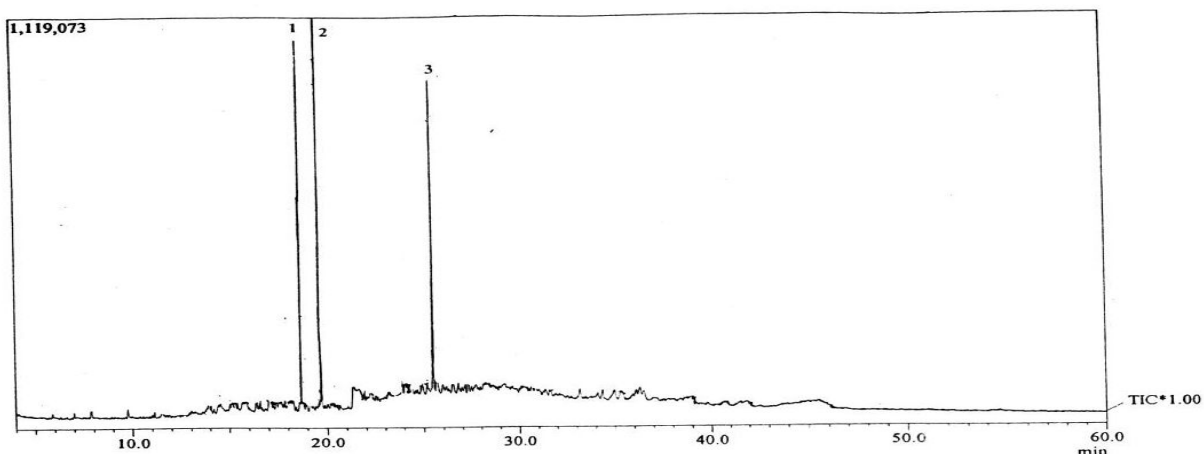
Identifikasi Senyawa Antibakteri dengan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa

Fraksi 1 diperoleh berupa cairan berwarna hijau kekuningan. Kromatogram gas fraksi 1 ditampilkan pada Gambar 1 yang memperlihatkan adanya 3 puncak dengan waktu retensi (tr) dan luas puncak (%) berturut-turut sebagai berikut: puncak 1, tR 18,658 menit

(33,30%); puncak 2, t_R 19.617 menit (34,01%) dan puncak 3, t_R 25.492 menit (32,69%)

Berdasarkan Gambar 1 menghasilkan tiga puncak dan diindikasikan bahwa fraksi

tersebut mengandung tiga senyawa dengan perincian sebagai berikut :

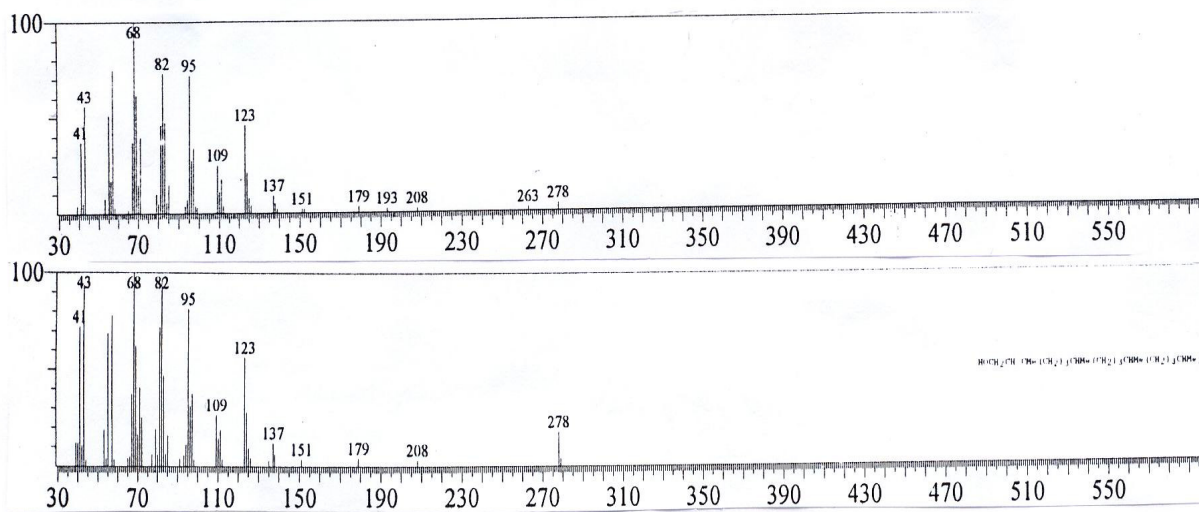


Gambar 1. Kromatografi gas Fraksi 1

Identifikasi senyawa pada puncak 1, t_R 18,658 menit (33,30%)

Spektrum massa senyawa pada puncak 1 dengan spektrum massa senyawa yang identik (Willy7.LIB) yaitu 3,7,11,15-tetrametil 2-hexadesena-1-ol ditampilkan pada Gambar 2. Berdasarkan data dari *library* (Willy 7.LIB) berat molekul senyawa 3,7,11,15-tetrametil 2-hexadesena-1-ol adalah 296 oleh karena itu ion

molekul (M^+) senyawa pada puncak 1 adalah m/z 296. Tidak terlihatnya ion molekul senyawa pada puncak 1 kemungkinan disebabkan tidak stabilnya ion molekul tersebut ($C_{20}H_{40}O^+$). Senyawa dengan (M^+) pada m/z 296 dengan puncak dasar m/z 68 merupakan identitas dari 3,7,11,15-tetrametil 2-hexadesena-1-ol (Silverstien, 1991).



Gambar 2. Spektrum massa senyawa pada puncak 1(A) dan Spektrum massa senyawa 3,7,11,15-tetrametil 2-hexadesena-1-ol (B)

Pola pemenggalan spektrum massa senyawa pada puncak 1 yang ditampilkan pada Tabel 9 memperlihatkan adanya pelepasan molekul H₂O yaitu pada m/z 278. Pelepasan gugus H₂O mengindikasikan senyawa tersebut mengandung gugus hidroksi (silverstien, 1991). Adanya pelepasan 15 sma secara berturut-turut

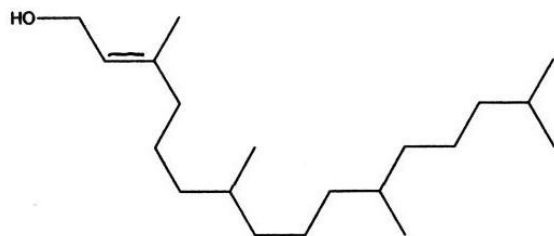
yaitu pada m/z 263 dan m/z 193 menunjukkan adanya pelepasan gugus-gugus metil (rantai cabang). Selanjutnya adanya pelepasan sebesar 14 sma secara berurutan menunjukkan adanya pelepasan gugus metilen (CH₂) yang mengindikasikan adanya rantai hidrokarbon (Silverstien, 1991).

Tabel 9. Pola pemenggalan spektrum massa senyawa pada puncak 1

m/z	% Kelimpahan	Pemenggalan
296*	-	M ⁺
278	7	M ⁺ - H ₂ O
208	4	M ⁺ - H ₂ O-C ₅ H ₁₀
179	5	M ⁺ - H ₂ O-C ₅ H ₁₀ - CHO
151	5	M ⁺ - H ₂ O-C ₅ H ₁₀ - CHO-C ₂ H ₄
137	8	M ⁺ - H ₂ O-C ₅ H ₁₀ - CHO-C ₂ H ₄ -CH ₂
123	25	M ⁺ - H ₂ O-C ₂ H ₁₀ - CHO-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂
109	20	M ⁺ - H ₂ O-C ₂ H ₁₀ - CHO-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂
95	80	M ⁺ - H ₂ O-C ₂ H ₁₀ - CHO-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ - CH ₂
82	85	M ⁺ - H ₂ O-C ₂ H ₁₀ - CHO-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -C ₂ H ₃
68	100	M ⁺ - H ₂ O-C ₅ H ₁₀ - CHO-C ₂ H ₄ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -C ₂ H ₃ -CH ₂

- ion molekul diperoleh dari data *library* (willy 7 .LIB)

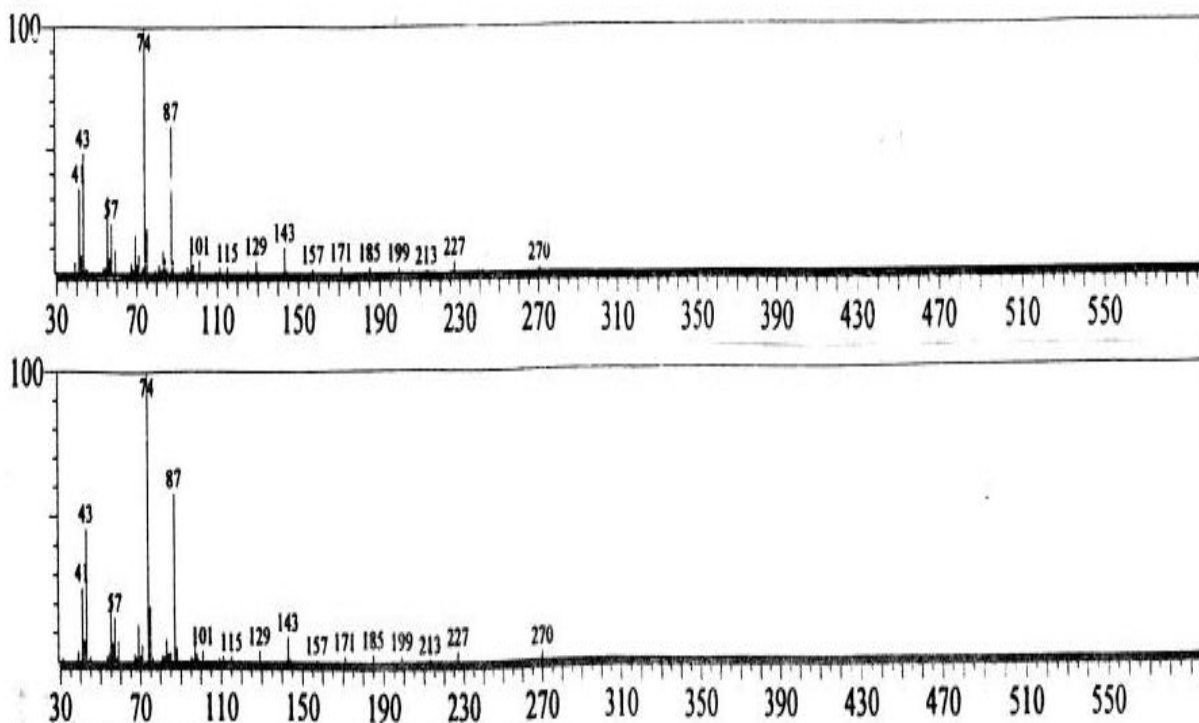
Dengan demikian berdasarkan pemenggalan seperti terlihat pada Tabel 9 dapat diindikasikan bahwa senyawa pada puncak 1 identik dengan 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadesena-1-ol (C₂₀H₄₀O) yang struktur molekulnya ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur molekul 3,7,11,15-tetrametil 2-Hexadesena-1-ol

Identifikasi senyawa pada puncak 2, t_R 19,617 menit (34,01%)

Spektrum massa senyawa pada puncak 2 dengan spektrum massa senyawa yang identik (Willy7 .LIB) yaitu ester metil hexadekanoat ditampilkan pada Gambar 4. Pada spektrum tersebut terlihat adanya ion molekul pada m/z 270 (M⁺) dan puncak dasar pada m/z 74 mengidentifikasi berat molekul pada m/z 270. Berdasarkan data dari *library* (Willy 7.LIB) berat molekul senyawa ester metil hexadekanoat adalah 270 oleh karena itu ion molekul (M⁺) senyawa pada puncak 2 adalah m/z 270. Senyawa dengan (M⁺) pada m/z 270 dengan puncak dasar m/z 74 merupakan identitas dari ester metil hexadekanoat (Silverstien, 1991).



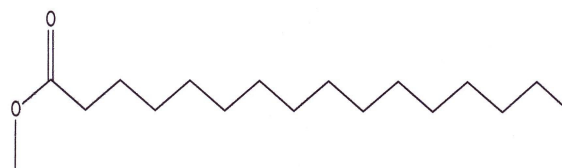
Gambar 4. Spektrum massa senyawa puncak 2(A) dan spektrum senyawa ester metil hexadekanoat (B)

Pada Tabel 10 memperlihatkan pelepasan gugus OCH_3 pada m/z 239 ($M^+ - 31$). Pemenggalan dari OCH_3 merupakan ciri khas dari senyawa metil ester. Pemenggalan gugus metilen (CH_2) secara berurutan merupakan ciri khas dari rantai hidrokarbon (Silverstien, 1991). Spektrum senyawa pada puncak 2 identik dengan ester metil hexadekanoat.

Tabel 10. Pola pemenggalan spektrum massa senyawa pada puncak 2

m/z	% Kelimpahan	Pemenggalan
270	13	M^+
239	7	$M^+ - \text{OCH}_3$
227	11	$M^+ - \text{C}_2\text{H}_{30}$
87	73	$M^+ - \text{C}_{13}\text{H}_{27}$
74	100	$M^+ - \text{C}_{14}\text{H}_{28}$

Berdasarkan (Wiley 7. LIB) senyawa ester alifatik dengan molekul ion (M^+) 270 dan puncak dasar m/z 74 merupakan identitas dari ester metil hexadekanoat dengan berat molekul 270 dan dengan rumus molekul $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$. Struktur dari ester metil heksadekanoat di tunjukkan seperti pada Gambar 5 sebagai berikut:



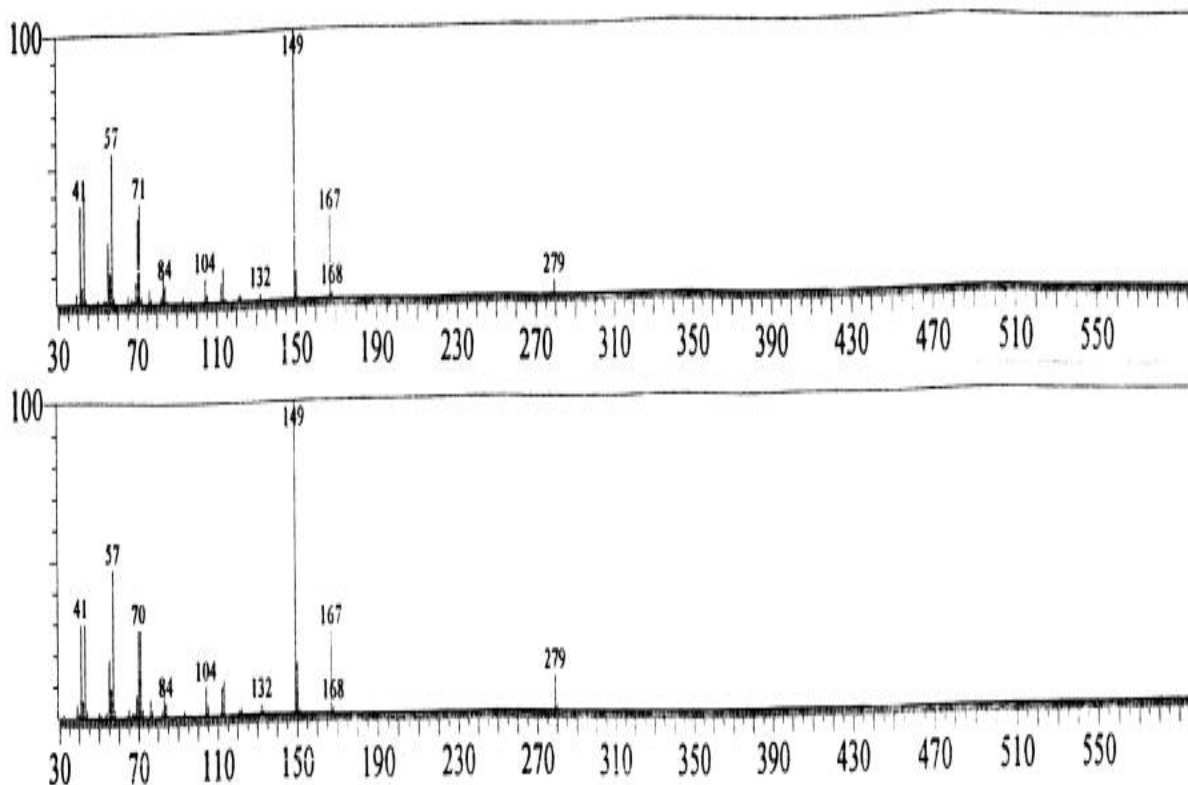
Gambar 5. Struktur molekul ester metil hexadekanoat

Identifikasi pada puncak 3 dengan tR 25,492 menit (32,69%)

Spektrum massa senyawa pada puncak 3 dan spektrum massa senyawa yang identik (Wiley7 .LIB) yaitu dioktil-1,2-

benzenadikarboksilat atau di-n-oktil ftalat ditampilkan pada Gambar 6. Berdasarkan data dari *library* (Willey7 .LIB) berat molekul dioktil-1,2-benzendikarboksilat adalah 390. Oleh karena itu ion molekul senyawa pada puncak 3 adalah pada m/z 390 dan puncak dasarnya pada m/z 149. Tidak terlihatnya ion molekul senyawa

pada puncak 3 kemungkinan disebabkan tidak stabilnya ion molekul tersebut ($C_{24}H_{38}O_4^+$). Senyawa dengan ion molekul pada m/z 390 dan puncak dasar pada m/z 149 merupakan identitas senyawa dioktil-1,2-benzenadikarboksilat (Silverstien, 1991).



Gambar 6. Spektrum massa senyawa puncak 3 (A) dan spektrum senyawa dioktil-1,2-benzenadikarbositat (B).

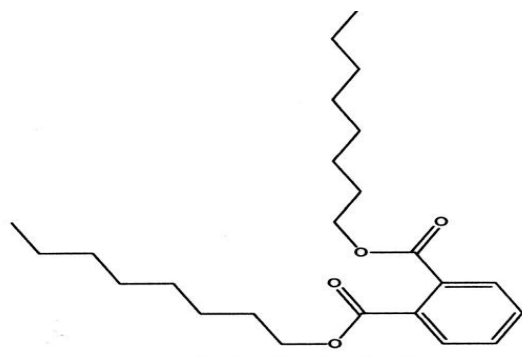
Pola pemengalan spektrum massa senyawa pada puncak 3 yang ditampilkan pada Tabel 11 menunjukkan 2 kali pemengalan gugus alkil pada rantai ester yaitu pada m/z 279 dan m/z 167. Pemengalan gugus alkil ini merupakan ciri khas dari ester aromatik (silverstien, 1991). Penggalan pada m/z 149 dengan intensitas kuat merupakan ciri khas ester ftalat (silverstien, 1991).

Tabel 11. Pola pemengalan spektrum massa senyawa pada puncak 3

m/z	% Kelimpahan	Pemengalan
390*	1	M ⁺
279	13	M ⁺ - C ₈ H ₁₅
167	40	M ⁺ - C ₁₆ H ₃₁
149	100	M ⁺ - C ₁₆ H ₃₃ O

*Ion molekul diperoleh dari data *library* (Willey7. LIB)

Dengan demikian berdasarkan pemenggalan seperti terlihat pada Tabel 11 dapat diindikasikan senyawa pada puncak 3 identik dengan dioktil-1,2 benzena dikarboksilat ($C_{24}H_{40}O_4$) yang struktur molekulnya ditampilkan seperti Gambar 7.



Gambar 7. Struktur molekul dioktil-1,2-benzenedikarboksilat

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat daun pepe ekstrak etil asetat hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*.
2. Fraksi yang paling aktif menghambat pertumbuhan bakteri mengandung 3 senyawa yaitu: 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadesena-1-ol, ester metil hexadekanoat, dan dioktil-1,2-benzenedikarboksilat.

Saran

Karena pada penelitian ini hanya dapat dilakukan pemisahan sampai menghasilkan fraksi yang terdiri atas tiga senyawa maka disarankan untuk diadakan pemisahan lebih lanjut agar menghasilkan senyawa tunggal yang aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*.

Perlu juga diteliti lebih lanjut ekstrak petroleum eter dan kloroform hasil partisi dari daun pepe yang juga aktif sebagai antibakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang membantu penelitian ini sampai selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S. A., 1986, Kimia, *Organik Bahan Alam*, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Universitas Terbuka
- Ahmadi, S. A., 1990, Flavonoid dan Phiyto Medika, Kegunaan dan Prospek, *Journal Phyto Medika*, 1 (3)
- Anonim, 2001, *Penagkajian Potnsi Asli Bali Bahan obat-obatan*, Kerjasama Bappeda Bali dengan Kelompok Studi Lingkungan F-MIPA Udayana
- Anonim, 1986, *Indek Tumbuh-tumbuhan Obat Indonesia*, P.T. Eisai Indonesia
- David, J., (ED), 1997, Kamus Oxford, Erlangga, Jakarta
- Fieser, L. P. dan Fieser, M., 1959, *Steroids*, Reinhold Publishing Corp, New York.
- Harbone, J. B., 1987, Metode Fitokimia: *Peuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Jilid II, ITB, Bandung
- Hutapea, J. R., (Ed)., 1994, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Jilid I, Badan Peneliti dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial R I, Jakarta
- Kardinan, A. dan Taryono, 2003, *Tanaman Penggempur Kanker*, PT Agro Media Pustaka, Jakarta
- Mc Lafferty, F. W, 1998, *Interpretasi Spektra Massa*, edisi ketiga, a.b. Sastrohamidjojo, H., Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Putra, S., 1991, *Taru Premana*, PT Upada Sastra, Denpasar, Cetakan V
- Riyadi, I., 1996, Isolasi dan Idntifikasi Senyawa Golongan Triterpenoid dari Kulit Batang Tumbuhan Tampal Besi (*Phyllantus reticulates, poir*), *Skripsi*, Jurusan kimia, FMIPA Universitas Udayana, Bali
- Robinson, T., 1991, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, Edisi II, ITB Bandung.

- Sastrohamidjojo, H., 1991, *Spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta
- Silverstien, R. M., Bassler, G. C., dan Morrill, T. C., 1991, *Spectrometric Identification Of Organic Compoun*, John Willy dan Sons, Ins., Singapore
- Suartini N. M., 2006, Skrining, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Antibakteri Dalam Tumbuhan Berkhasiat Sebagai Obat Sakit Perut Yang Tercatat Dalam Usada Taru Premana, *Skripsi*, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Udayana
- Sudjadi, 1992, *Metode Pemisahan*, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta
- Sukarwa, I M., 1983, *Usada Dalem*, Proyek Pembinaan dan Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan, Propinsi Bali
- Sukersa, I W., 1995, Taru Premana, Suatu Kajian Spikologis, *Tesis*, Universitas Padjadjaran, Bandung
- Surahadikusuma, E., 1989, *Kimia Tumbuhan*, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas, Ilmu Hayat, ITB, Bandung
- Swantara, I M. D., 2005, *Teknik Isolasi Senyawa Bioaktif dalam Tumbuhan*, Workshop Pengelolaan Potensi Biodiversitas, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran
- Tengah, I G. P., 1995, Study Tentang: *Inventaris, Determinasi, dan Cara Penggunaan Tanaman Obat pada "Lontar Usada"* di Bali, Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi Departemen Kesehatan, Propinsi Bali
- Wijaya, I P. D., 2005, Penapisan Isolasi dan Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antibaktri dalam Tumbuhan Obat Pada Usada Taru Premana, *Skripsi*, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran