**JURNAL KIMIA (*JOURNAL OF CHEMISTRY*) 16 (1), JANUARI 2022** **p-ISSN 1907-9850**
**DOI: https://doi.org/10.24843/JCHEM.2022.v16.i01.p05** **e-ISSN 2599-2740**

# ISOLASI SENYAWA TRITERPENOID EKSTRAK ETANOL DAUN JERUJU *(ACHANTUS ILICIFOLIUS)* DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERINYA TERHADAP *S. AUREUS* DAN *E. COLI*

**M. Latief[*], Meriyanti, N. Fadhilah dan I. L. Tarigan, A. N. Ayu, R. Maharani, E. Aulia dan D. Siregar**

***Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia***
****Email: madyawatilatief@unja.ac.id***

## ABSTRAK

*Staphylococcus aureus* dan *Escherichiacoli* merupakan mikroba patogen penyebab infeksi kulit dan diare. Infeksi bisa diatasi dengan penggunaan antibiotik alami. Penelitian sebelumnya menunjukkan *A. ilicifolius*berpotensi sebagai antibiotik alami karena beberapa bagian tanaman ini memiliki antimikroba aktif.Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi senyawa bioaktif dari ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* dan menguji bioaktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E.coli.* Isolasi senyawa dengan Kromatografi Vakum Cair (KVC). Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakterinya dengan menggunakan metode *disc-diffusion*. Hasilnya diperoleh 12 fraksi menggunakan KVC dimana fraksi 3 (F3) didapatkan kristal. Kristal tersebut direkristalisasi dengan n-heksana, untuk mendapatkan isolat F3. Kemurnian isolat diuji dengan tiga eluen Kromatografi Lapis Tipis (KLT), kemudian dilanjutkan dengan karakterisasi dan uji antibakteri. Interpretasi skrining fitokimia dan analisis dengan UV-Vis menunjukkan isolat F3 merupakan senyawa triterpenoid, yang diperkuat dengan hasil *Fourier-Transform Infrared* (FTIR) bahwa terdapat gugus fungsi -OH (3321,96 $cm^{-1}$), -CH alifatik (2954,95 $cm^{-1}$), -C = C (1661,16 $cm^{-1}$), -CH (1447.93 $cm^{-1}$, 1378,11$cm^{-1}$), -CO (1050,54 $cm^{-1}$), -C = C alkena (881,11 $cm^{-1}$). Hasil spektrum UV-Vis mengindikasikan isolat F3 memiliki panjang gelombang maksimum (λ max) pada 208 nm dan 230 nm yang menunjukkan adanya gugus C=C terkonjugasi. Dari hasil uji aktivitas antibakteri didapatkan bahwa isolat F3 memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap *E. coli* dan *S. aureus.*

**Kata kunci**: antibakteri, *E. coli*, jeruju (*A. ilicifolius*), *S. aureus,* triterpenoid.

## ABSTRACT

*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are pathogenic microbes cause of skin infection and diarrhoea. Infections can be resolved with use of natural antibiotics. Previous research has shown *A. ilicifolius* has potential as a natural antibiotic because some parts of this plant have antimicrobial actives. This study aimed to isolate the bioactive compound from the ethanol extract of *A. ilicifolius* leaf and test the antibacterial bioactivity against *S. aureus* and *E. coli*. The isolation of the compounds was carried out by Vacuum Liquid Chromatography (VLC) and the antibacterial activity was tested using disc diffusion method. Twelve fractions were obtained from the VLC, where crystals were gained for the fraction 3 (F3). The crystals are recrystallized with n-hexane to obtain F3 isolates. The purity of the isolates was tested by Thin Layer Chromatography (TLC) by using 3 eluents followed by characterization and antibacterial assay. Fourier-Transform Infrared (FTIR) interpretation indicated that F3 isolate was triterpenoid compound having -OH group (3321.96 $cm^{-1}$), -CH aliphatic (2954.95 $cm^{-1}$), -C=C (1661.16 $cm^{-1}$), -CH (1447.93 $cm^{-1}$, 1378.11$cm^{-1}$), -CO (1050.54 $cm^{-1}$), -C=C alkenes (881.11 $cm^{-1}$). UV-Vis spectrum showed that the F3 isolate had a maximum wavelength (λ max) at 208 nm and 230 nm which indicated the presence of a conjugated C=C group. The results of antibacterial activity test showed that F3 isolate had low antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*.

**Keywords**: antibacterial, *E. coli, jeruju (A. ilicifolius), S. aureus,* triterpenoid.

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur patogen merupakan masalah kesehatan yang terjadi hampir di seluruh dunia. *S. aureus* merupakan mikroba patogen penyebab penyakit kulit, sedangkan *E. coli* merupakan penyebab gangguan pencernaan

dan diare (Anisa *et al*., 2021). Infeksi ini dapat diatasi dengan penggunaan antibiotik (Amerikova *et al*., 2019). Penggunaaan antibiotik yang berkelanjutan dapat menimbulkan masalah resistensi mikroba. Solusi untuk mengatasi masalah resistensi ini, yaitu dengan menggunakan antibiotik alami. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antibiotik alami adalah jeruju (*Acanthus ilicifolius*) (Latief *et al*., 2018; Saptiani *et al*., 2013). Kulit batang, akar, buah dan daun *A. ilicifolius* dimanfaatkan sebagai obat neuragia, hipertensi, hepatitis, sakit perut, rematik, penyakit kulit, jerawat, bisul, asma, diuretik, pembersih darah, obat kanker terutama kanker hati, obat luka pisau beracun, ekspektoran, anti radang, antiflogistik dan anti parotitis (Chundakkadu *et al*., 2011). Metabolit sekunder yang terkandung dalam *A. ilicifolius* inilah yang menyebabkan tumbuhan ini memiliki berbagai efek farmakologi salah satunya sebagai antimikroba(Nusaibah *et al.*, 2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak tumbuhan *A. ilicifolius* telah dilakukan terhadap beberapa strain mikroba. Hasil pengujian beberapa fraksi daun *A. ilicifolius,* fraksi etil asetat menunjukkan daya hambat 12 mm, diikuti ekstrak kasar (11,33 mm), dan fraksi n-butanol (11 mm)(Saptiani *et al*., 2013)

Hasil uji aktivitas fraksi dari ekstrak akar memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Fraksi I aktif terhadap Enterobacter 5 dengan zona hambat 10,0±0,34 mm. Fraksi II aktif terhadap Coagulant negative *stapylococi* dengan diameter zona hambat 11,80±0,16 mm. Fraksi III memiliki aktivitas antibakteri yang paling tinggi terhadap *Enterobacter* 10, *Klebsiellasp*, *Pseudomonassp*. dan *E. Coli*. berturut – turut menghasilkan zona hambat (13,98mm ±0,58), (13,22mm ±0,50), (13,15mm ±1,15) dan (13,10mm ±0,04) (Pringgenies *et al.*, 2020).

Berdasarkan studi yang telah dipaparkan menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *A. ilicifolius* dari Kabupaten Tanjung Jabung Timur Provinsi Jambi memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Sifat kepolaran yang sama dari metanol dan etanol inilah yang memungkinkan ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* juga berpotensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Pada penelitian ini proses isolasi senyawa bioaktif dilakukan dari ekstrak etanol *A. ilicifolius* yang berasal dari daerah Tanjung Jabung Timur dan uji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Sampel daun *A. ilicifolius* diperoleh dari dari Kabupaten Tanjung Jabung Timur Provinsi Jambi. Mikroba uji *S. aureus* dan *E.coli* diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi. Bahan reagen fitokimia yang digunakan adalah HCl(p), pita magnesium (Mg), NaOH 10%, pereaksi Bouchardat, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, $H_2SO_4$ 2N, HCl 2N dan larutan $FeCl_3$. Bahan untuk proses isolasi adalah etil asetat, aseton, n-heksan, etanol, plat KLT, silika gel Merck G60 dan kertas saring. Bahan untuk uji antibakteri adalah alkohol 70%, akuadest, Nutrient Agar (NA), NaCl steril dan kertas saring.Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat untuk proses isolasi senyawa, skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri. Beberapa alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas (beaker gelas, tabung reaksi, Erlenmeyer, gelar ukur), kolom kromatografi, timbangan analitik, plat KLT, pipa kapiler dan detektor UV 254 nm CAMAG. Alat untuk skrining fitokimia yaitu cawan porselen, sedangkan beberapa peralatan yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri isolat adalah inkubator, autoklaf, mikropipet, bunsen, cawan petri dan jarum ose.

### Prosedur Kerja

### Skrining Fitokimia

Simplisia daun *A. ilicifolius* diekstrak menggunakan etanol 70%, dengan mengacu pada penelitan terdahulu, difraksinasi, dan diisolasi.Penapisan fitokimia dilakukan terhadap ekstrak etanol dan isolatedaun *A. ilicifolius* diantaranya uji flavonoid, triterpenoid/steroid, alkaloid, saponin, tanin dan fenolik. Metode uji skrining fitokimia mengikuti prosedur penelitian sebelumnya (Muadifah *et al.*, 2019; Tarigan *et al.*, 2020).

### Fraksinasi dan Isolasi Senyawa

Fraksinasi dan isolasi senyawa bioaktif dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi vakum cair (KVC) menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda *(gradient polarity*) yaitu pelarut n-heksan

(non-polar), dan asetat dengan peningkatan kepolaran (*gradiet polarity).* Pemisahan dan isolasi senyawa dilakukan dengan menggunakan KVC terlebih dahulu kemudian dilanjutkan uji KLT. Sebelum di isolasi, ekstrak kental terlebih dahulu di impregnasi kemudian dimasukkan sampel yang sudah pre kolom. Sampel yang digunakan yaitu ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* sebanyak 8 gram. Silika gel digunakan sebagai fasa diam pada kolom vakum dan fasa geraknya yaitu eluen dengan peningkatan kepolaran. Fraksi yang diperoleh ditampung dalam botol vial dan diuapkan. Lalu di lakukan analisis hasil pemisahan menggunakan uji kromatografi lapis tipis (KLT). Apabila pola noda yang diperoleh sama, maka fraksi bisa digabungkan. Jika isolat yang diperoleh sudah menunjukkan satu noda, dilakukan analisis kemurnian isolat yang dihasilkan dengan KLT menggunakan tiga jenis eluen dengan kepolaran yang berbeda (polar, semi-polar, dan non-polar).

**Pengujian Aktivitas Antibakteri**

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri, alat dan bahan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu $121^0$C selama 15 menit. Untuk alat yang tidak tahan panas disterilisasi dengan menggunakan alkohol 70%, lalu dipijarkan diatas bunsen.

***Persiapan media biakan bakteri***

Sebanyak 2 gram media natrium agar, NA (ekstrak yeast 5 g, tripton 5 g, NaCl 5 g, tepung agar 5 g dalam 1 liter aquades) dimasukkan dalam erlemenyer 250 mL, ditambahkan akuades 100 mL, dipanaskan dan dihomogenkan dengan stirrer, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu $121^0$C selama 15 menit.

***Pembuatan inokulum bakteri***

Masing-masing bakteri dibiakkan pada media NA pada cawan petri, dengan cara 1 ose bakteri digoreskan pada media NA steril, lalu diinkubasi (T $37^0$C, 24 jam). Biakan yang diperoleh disimpan pada suhu 5 °C.

***Uji aktivitas antibakteri***

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Setiap kertas cakram steril direndam dalam larutan uji dengan variasi konsentrasi (0, 10, 20, 30, 40 dan 50 %) dan didiamkan ± 15 menit. Selanjutnya kertas cakram diletakkan pada cawan petri yang mengandung bakteri uji, dan diinkubasi (T $37^0$C, 24 jam).

Aktivtias antibakteri diukur terhadap diameter zona hambat disekitar cakram uji menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Kontrol positif yang digunakan yaitu amoksisilin, sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu pelarut ekstrak (etanol), jumlah kontrol positif dan negatif disamakan dengan jumlah ekstrak 10%.

**Karakterisasi Isolat**

Proses identifikasi senyawa bioaktif dilakukan secara bertahap, dari hasil skrining fitokimia selanjutnya isolat dianalisis dari spektrum UV-Vis untuk melihat puncak serapannya dan karakterisasi gugus fungsi melalui FTIR. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan literatur.

**Analisis Fitokimia**

Analisis fitokimia dilakukan dengan cara melihat adanya reaksi positif atau negatif dari reagen dan sampel yang digunakan. Reaksi tersebut dapat berupa timbulnya perubahan warna, endapan atau terbentuknya lapisan. Aktivitas antibakteri ekstrak dianalisis secara deskriptif dari pengukuran diameter zona bening yang diperoleh, sedangkan untuk

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun *A, ilicifolius* ditemukan golongan senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid, alkaloid, saponin, tanin dan fenolik. Sedangkan, isolat tunggal hanya mengandung triterpenoid (Gambar 2). Hasil skrining fitokimia disajikan dalam Tabel 2.

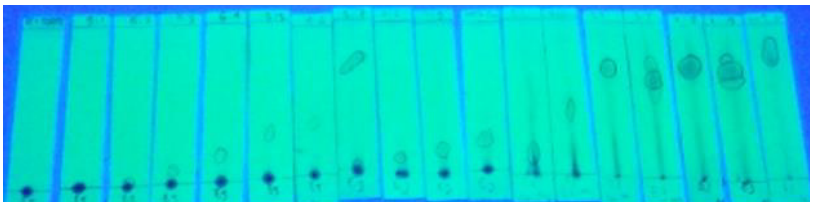
Ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* secara kualitatif mengandung flavonoid, triterpenoid, alkaloid, saponin, tanindan fenolik.Hasil skrining ekstrak etanol memiliki kandungan yang sama dengan penelitian sebelumnya, yangmenyatakan bahwa daun *A. ilicifolius* mengandung alkaloid, flavonoid,terpenoid, saponin dan tanin, sedangkan isolat mengandung triterpenoid (Nusaibah et al., 2021; Pringgenies et al., 2020).

**Tabel 2**. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Isolat F3

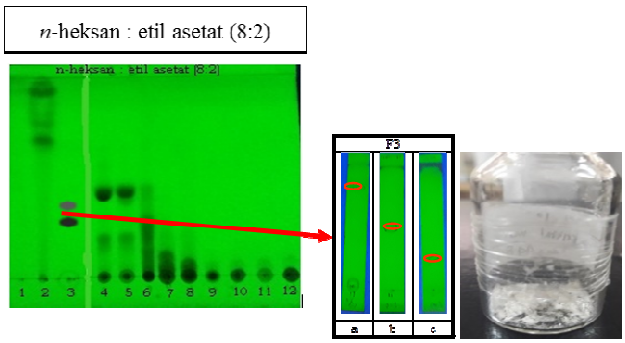
| Senyawa Metabolit Sekunder | Pereaksi Uji | Pengamatan | Hasil | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Ekstrak Etanol | Isolat F3 |
| Flavonoid | HCl+Mg | Menghasilkan buih dan warna jingga | + | - |
| Triterpenoid | Lieberman Bourchard | Terbentuk warna ungu/jingga | + | + |
| Steroid | Lieberman Bourchard | Terbentuk warna biru/ hijau | + | - |
| Alkaloid | Dragendorf | Terbentuk endapan merah hingga jingga | + | - |
| Saponin | Tes Busa | Dihasilkan busa konstan | + | - |
| Tanin | FeCl3 | Terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman | + | - |
| Fenolik | $FeCl_3$ | Terbentuk warna hitam violet | + | - |

**Isolasi Senyawa dari Ekstrak Etanol Daun *A. ilicifolius***

Isolasi senyawa dari ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* yang telah dilakukan dengan sampel sebanyak 8 gram dan menggunakan kolom kromatografi yang berdiameter 7 cm. Sampel di elusi berdasarkan peningkatan kepolaran dengan eluen *n*-heksan dan etil asetat, kemudian dilanjutkan dengan eluen etil asetat:methanol (6:4). Hasil isolasi senyawa ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* dengan KVC diperoleh 48 vial, kemudian semua vial dianalisis pola spot noda menggunakan KLT. Hasil spot noda vial yang memiliki pola dan Rf yang sama digabungkan dan diperoleh 12 fraksi. Fraksi yang digabungkan yaitu fraksi 1 (1-6) sebanyak 96,9 mg, fraksi 2 (7-9) sebanyak 17,2 mg. Fraksi 3 (10-11) berupa kristal yang yang berwarna hijau sebanyak 34 mg, fraksi 4 (12) sebanyak 16,1 mg, fraksi 5 (13) sebanyak 12,7 mg, fraksi 6 (14-17) sebanyak 203 mg, fraksi 7 (18-20) sebanyak 113 mg, fraksi 8 (21-26) mg sebanyak 11,3 mg, fraksi 9 (27-30) sebanyak 64,1 mg, fraksi 10 (31-33) sebanyak 20,4 mg, fraksi 11 (34-36) sebanyak 33,6 mg dan fraksi 12 (37-48) sebanyak 67,4 mg. Hasil uji KLT fraksi gabungan dari ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil skrining fitokimia yang dilakukan, ditemukan bahwa senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* adalah golongan flavonoid, triterpenoid, alkaloid, saponin, tanindan fenolik. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yangmenyatakan bahwa daun *A. ilicifolius* mengandung alkaloid, flavonoid,terpenoid, saponin dan tannin (Ernianingsih *et al*., 2014).



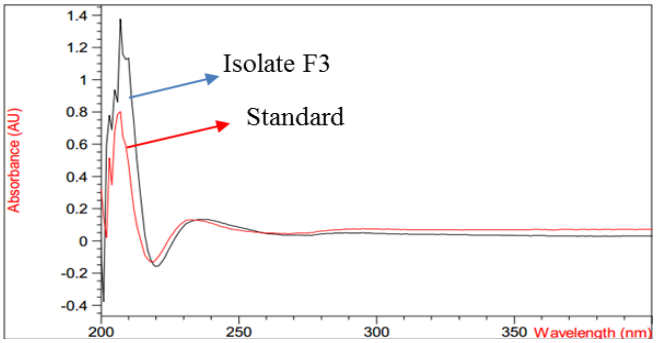
**Gambar 1.** Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun *A. ilicifolius*



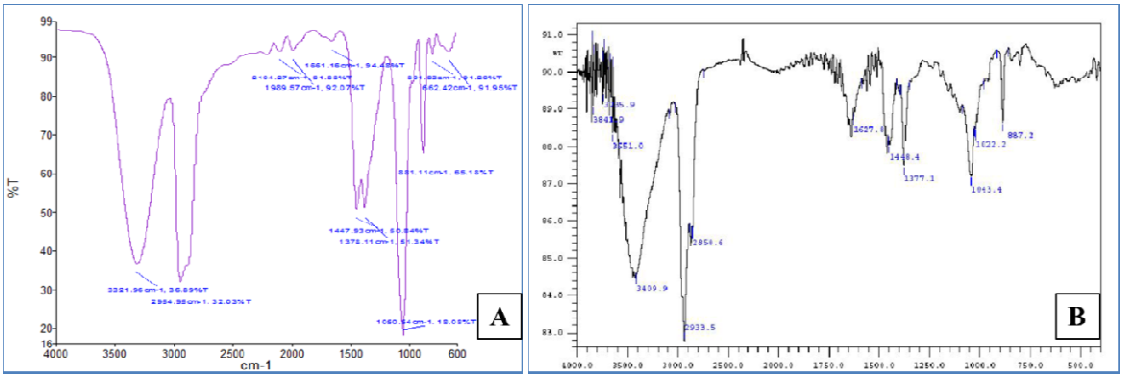

**Gambar 2.** Hasil KLT Fraksi KVC dari Ekstrak Etanol Daun *A. ilicifolius*

**Karakterisasi Isolat**

Karakterisasi awal isolat F3 menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui ikatan rangkap terkonjugasi dalam senyawa bioaktif dan dilanjutkan dengan spektrofotometer FTIR untuk mendapatkan gugus fungsi senyawa bioaktif. Hasil spektrum UV-Vis terhadap isolat F3 (Gambar 3), ditemukan nilai panjang gelombang maksimum (λmaks) yaitu pada 208 nm dan 230 nm.Ditemukan nilai serapan maksimum pada 208 nm dan 230 nm, dan menunjukkan adanya transisi elektron π→π* yang mengindikasikan adanya gugus kromofor yang khas sistem ikatan rangkap dari cincin senyawa C=C terkonjugasi(Sastrohamidjojo, 2014; Silverstein et al., 1984). Pada panjang gelombang <270 nm menunjukkan tidak adanya puncak serapa menunjukkan absennya golongan cincin aromatik. Berdasarkan data UV, senyawa hasil isolasi berasal dari golongan non aromatik yaitu triterpenoid atau steroid yang memiliki ikatan rangkap pada cincin alifatiknya (Gambar 3).




**Gambar 3.** Spektrum UV-Vis Isolat F3 (biru) dan Senyawa Triterpenoid standar (Merah)




**Gambar 4.** Spektrum FTIR; a) Isolat F3 dan b) Pembanding Triterpenoid

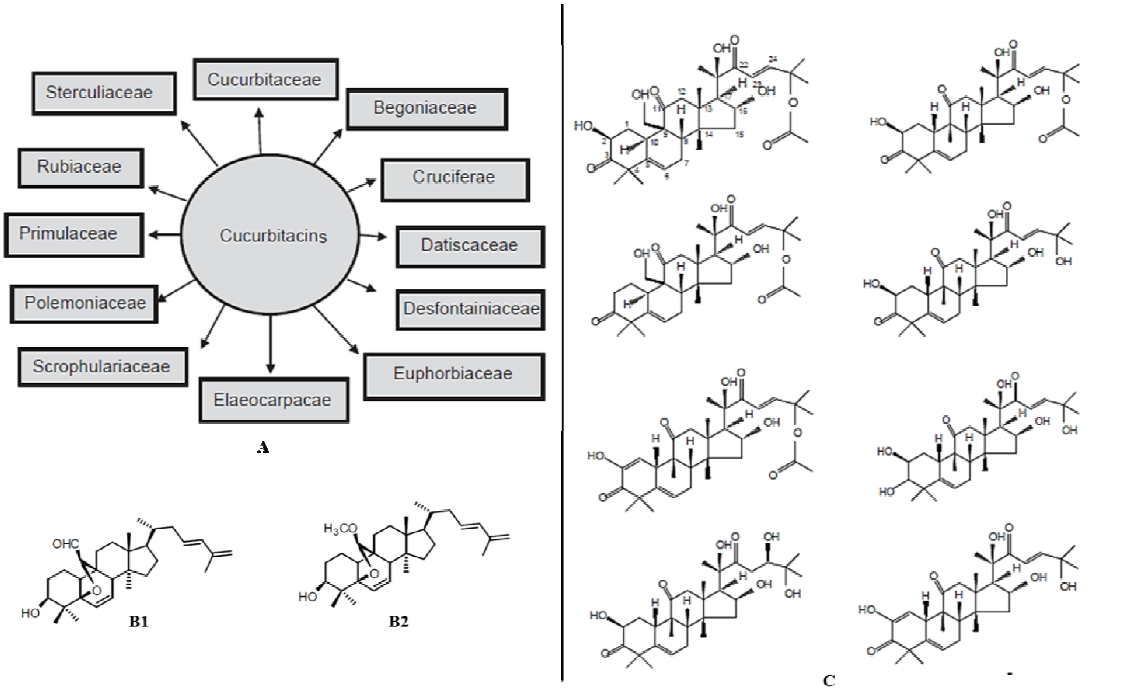
Karakterisasi isolat F3 dengan spektrofotometer FTIR ini bertujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsi isolat. Spektrum FTIR isolat F3 dapat dilihat pada Gambar 4 menunjukkan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3321.96 $cm^{-1}$, 2954.92 $cm^{-1}$, 1661.16 $cm^{-1}$, 1447.93 $cm^{-1}$, 1378.11 $cm^{-1}$, 1050.54 $cm^{-1}$dan 881.11 $cm^{-1}$. Hasil spektrum FTIR isolat F3 (Tabel 3) menunjukkan adanya serapan cukup lebar dan tajam dengan intensitas yangkuat pada bilangan gelombang 3321,96 $cm^{-1}$ yang menunjukkan serapan gugushidroksi (–OH) yang terikat pada atom karbon. Selain itu, adanya pita serapan tajam dan intensitas yang kuat pada bilang gelombang 1050.54 $cm^{-1}$ mengkonfirmasi secara kuat vibrasi ulur –C-O ikatan –C-OH ataupun C-O-C (Silverstein *et al*., 1984). Adanya pita serapan tajam dan kuat pada 2954,95 $cm^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur untuk -C-H siklik yang didukung dengan munculnyaserapan tajam yang kuat pada bilangan gelombang 1447,93 $cm^{-1}$ dan 1378,11$cm^{-1}$ yang menunjukkan vibrasi tekuk untuk -C-H siklik. Pita serapan yang muncul pada bilangan gelombang 1661,16 $cm^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur -C=C siklik yang diperkuat dengan pita serapan daerah sidik jari pada 881.11 $cm^{-1}$ yang merupakan vibrasi ulur ikatan -C=Csiklik. Dugaan senyawa triterpenoid ini, diperkuat dengan adanya serapan padabilangan gelombang pada 1448,4 cm-1 dan 1377,1 cm-1, menunjukkan adanya gugus gem dimetil yang merupakan ciri khas dari golongan senyawa triterpenoid (Mulyanti *et al*., 2010).

Hasil spektrum UV-Vis dan FTIR isolat F3 mengindikasikan isolat yangdiperoleh adalah senyawa turunan terpenoid yaitu triterpenoid dengan serapanmaksimum spektrum UV-Vis pada 208 nm dan 230 nm menunjukkan transisielektron $\pi \rightarrow \pi^*$ yang mengindikasikan adanya gugus kromofor yang khas untuksistem ikatan rangkap (C=C) dari cincin alifatik sehingga memungkinkansenyawa yang teridentifikasi dari golongan terpenoid/steroid. Pita serapan tajamyang muncul pada bilangan gelombang 1447,93 cm-1 dan 1378,11 cm-1mengindikasikan adanya gugus gem dimetil yang merupakan ciri khas darigolongan senyawa triterpenoid. Isolat F3 diduga senyawa triterpenoid yangtersubstitusi gugus hidroksi (-OH). Hasil ini juga sesuai dengan skriningfitokimia isolat yang menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh adalah golongansenyawa triterpenoid.

Hasil dugaan senyawa dari isolat F3 ini juga diperkuat dengan adanya kesamaan spektrum FTIR dengan penelitian (Mulyanti et al., 2010) yang memperlihatkan banyaknya serapan yang identik dan hanya satu atau duaserapan saja yang berbeda. Senyawa yang berhasil diisolasi oleh (Mulyanti et al., 2010), merupakan senyawa dari fraksi aktif *n*-heksan daging buah paria(*Momordica charantia L*) yang digunakan untuk mengobati penyakit diabetes mellitus. Dugaan struktur senyawa dapat dilihat pada Gambar 5.

**Tabel 3.** Interpretasi Data FTIR Isolat F3

| Isolat F3 | Bilangan Gelombang Triterpenoid* | Pustaka* | Bentuk Pita | Gugus |
|---|---|---|---|---|
| 3321.96 | 3367.3 | 3300-3500 | Lebar | -OH |
| 2954.95 | 2933.5 dan 2850 | 2700-3000 | Tajam | -CH Siklik ulur |
| 1661.16 | 1672 | 1650-1900 | Lemah | -C=C Siklik Ulur |
| 1447.93 | 1448.4 | 1300-1475 | Tajam | -C-H Sikluk tekuk |
| 1378.11 | 1377.1 | | | |
| 1050.54 | 1043.4<br>1022.2 | 1020-1250 | Tajam | -C-O ulur |
| 881.11 | 887.2 | 650-1000 | Tajam | -C=C Siklik/Alkena |




**Gambar 5.** Perkiraan Stuktur Senyawa dan Kelompok Analog Kukurbitasin. (A). Occurrence of Cucurbitacins in various plant families; (B1) Hasil Isolasi (23E)-3,βHidroksi-7,β-metoksikukurbita-5,23,25-tien-19-al dan (B2)(19R,28E)5,β-19-Epoksi-19-metoksikukurbita-6,23,25-tien-3β-ol' (C) Chemical structures of cucurbitacin analogs

**Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun A. ilicifolius**

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* menggunakanmetode difusi agar.Aktivitas antibakteri diamati dari zona hambat beningdisekitar cakram kertas.Semakin besar diameter zona hambat, maka semakin besar aktivitas antibakteri, zona bening di sekitar kertas cakrammenunjukkanadanya aktivitas antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri Isolat F3 terhadap *S. aureus* dan *E. coli* disajikan dalam Tabel 4.

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat F3 terhadap *E. coli* ataupun *S. aureus*, menunjukkan diameter zona hambat mendekati zonahambat kontrol positif, tetapi masih dalam kategori lemah. Adanya zona bening disekitar cakram menunjukkanbahwa isolat F3 yang diperoleh memiliki kemampuan dalam menghambataktivitas antibakteri mikroba uji. Hal ini bisa disebabkan adanya gugus hidroksi (-OH) pada isolat F3 seperti halnya pada amoksisilin. Aktivitas antibakteri isolate F3 terhadap bakteri *S. aureus* lebih baik dibandingkan terhadap bakteri *E. coli*.Efektivitas antibakteri dari suatu senyawa untuk setiap bakteri tidak sama,karena perbedaan struktur dinding sel, sensitivitas organisme dan mekanismekerja senyawa. Struktur dinding sel bakteri gram positif berbeda dengan bakteri gram negatif.

**Tabel 4.** Diameter zona hambat Isolat F3 terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

| Konsentrasi Sampel (%) | *S. aureus* (mm) | | | Rata-rata | *E. coli*(mm) | | | Rata-rata |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 10 | 0.23 | 0.50 | 0.50 | 0.41 | 0.36 | 0.34 | 0.35 | 0.35 |
| 20 | 0.12 | 1.00 | 1.18 | 0.77 | 0.06 | 0.10 | 1.08 | 0.41 |
| 30 | 1.00 | 1.02 | 1.00 | 1.01 | 0.10 | 0.08 | 1.08 | 0.42 |
| 40 | 1.00 | 1.08 | 1.08 | 1.05 | 0.12 | 0.08 | 1.10 | 0.43 |
| 50 | 2.00 | 1.02 | 1.00 | 1.34 | 1.04 | 0.08 | 1.10 | 0.73 |
| Kontrol Positif | 3.14 | 1.00 | 1.08 | 1.74 | 1.06 | 1.02 | 2.12 | 1.40 |
| Kontrol Negatif | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

Bakteri gram positif diketahui memiliki 90% peptidoglikan serta lapisan tipis asam terikat yang mudah larut dalam air dan teikuronat. *S. aureus* adalah bakteri yang tersusun dari satu lapisan peptidoklikan yang membentuk suatustruktur yang tebal dan kaku (Hardiansyah *et al.,* 2020). Sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan lipid lebih banyak, peptodoklikan 5-10% serta mempunyai membran luar yangterdiri dari protein, lipopolisakarida (lapisan luar) dan fosfolipid (lapisan dalam). Senyawa terpenoid merupakan golongan senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai senyawa bioatif antibakteri, karena memiliki senyawa lipolifik yang dapat merusak membran bakteri (Lestari *et al*., 2020; Zhang *et al*., 2018). Senyawa terpenoid dapat membentuk ikatan polimer yang relatif kuat, berinteraksi dengan protein transmembran (porin) yang berada di membrane luar dinding sel bakteri. Ikatan tersebut dengan kuat mampu merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga menghambat jalur penyerapan nutrisi bakteri. Nutrisi yang dihambat akan berefek pada berhentinya pertumbuhan bakteri, dan membunuh bakteri (Guimarães *et al*., 2019). Uji aktivitas antimikroba senyawa terpenoid juga telah banyakdilakukan. Isolat triterpenoid dari rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria*) memiliki aktivitas yang lemah pada konsentrasi 1000 ppm terhadap *S. aureus* (4mm) dan *E. coli* (2 mm) dan tidak memiliki zona hambat terhadap *S. aureus* dan *E. coli* pada 100 ppm (Rita, 2010).

Senyawa triterpenoid dari daun Binahong (*Anredera cordifolia*) memiliki aktivitas yang lemah pada konsentrasi 25-100% ppm terhadap *S. aureus* dan *E. coli*dan tidakmemiliki aktivitas penghambatan ketika diformulasikan dalam sediaan*hand sanitizer* (Veronita *et al*., 2017). Senyawa triterpenoid yangmemiliki aktivitas antimikroba yaitu merediol, linalool, indole dan kaniden,asiatik, oleanolik, asam betulinik, β-amyrin, lupeol, botulin dan asam ursolik efektif dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri *B. subtilis, S.aureus* dan *E. coli*(Kubo *et al*., 1992; Mann *et al*., 2012). Senyawa Kukurbitasin dari daun *A. ilicifolius* memiliki aktivitas antibakteri yang lemah. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki beberapa bioaktivitas sebagai antitumor, anti-inflamasi, antidiabetes, Aterosklerosis, Promotor sirkulasi darah, dan Immunosuppressant(Jian *et al*., 2005; Jing *et al.*, 2020; Kaushik *et al*., 2015).Kukurbitasin memiliki beberapa analog yang memiliki bioakvitas yang berbeda. Kukurbitasin B diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* (Hassan *et al*., 2017), sedangkan Kukurbitasin E memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri gram positif dan sedang terhadap bakteri gram negatif (Chawech *et al*., 2015).

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ditemukan bahwa senyawa yang berhasil diisolasi dari ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* adalah golongan triterpenoid yang ditandai dengan karakteristik gugu aktif alifatik C-H ($CH_2$, $CH_3$), -OH terikat, C-O dan C=C siklik. Selain itu juga terdapat gugus fungsi dimetil dengan adanya serapan pada nilai bilangan gelombang 1447.91 $cm^{-1}$ dan 1378.11$cm^{-1}$Senyawa golongan triterpenoid yang berhasil diisolasi dari ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan zona hambat 1,41 mm dan *E. coli* dengan zona hambat 0,75 mm, termasuk dalam kategori lemah.

### Saran

Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut terhadap isolat F3 dan dilakukan pengujian terhadap bioaktivitas lainnya seperti anti-inflamasi, antidiabetes, dan aktivitas sitotoksik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Universitas Jambi atas support pendanaan penelitian ini melalui Skema Hibah Penelitian PNBP LPPM Universitas Jambi.

## DAFTAR PUSTAKA

Amerikova, M., Pencheva El-Tibi, I., Maslarska, V., Bozhanov, S., & Tachkov, K. 2019. Antimicrobial activity, mechanism of action, and methods for stabilisation of defensins as new therapeutic agents. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 33(1): 671–682.

https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1611385

Anisa, A., Ambarwati, M., Triani, A. A., & Tarigan, I. L. 2021). Review: Modification of Nanocellulose as Conjugate of Infection-Causing Antibacterial Hydrogel. *Fullerene Journal of Chemistry*. 6(1): 58. https://doi.org/10.37033/fjc.v6i1.241

Chawech, R., Trigui, M., Mihoubi, M., Fabre, N., Jarraya, R., & Mhalla, D. 2015. Chemical composition and antibacterial activity of extracts and compounds isolated from Citrullus colocynthis (L.) Schrad. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 4(44): 197–203.

Chundakkadu, A. P., Sathish, K. M., Santhoshkumar, T. R., & Eppurathu, V. S. 2011. Phytochemical analysis and in vitro screening for biological activities of Acanthus ilicifolius. *Journal of Pharmacy Research*. 4(7): 1977–1981.

Ernianingsih, W. S., Mukarlina, & Rizalinda. 2014. Etnofarmakologi Tumbuhan Mangrove Achantus ilicifolius L ., Acrostichum speciosum L . dan Xylocarpus rumphii Mabb. di Desa Sungai Tekong Kecamatan Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Protobiont*. 3(2): 252–258.

Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M. C. C., Endringer, D. C., Fronza, M., & Scherer, R. 2019. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*. 24(13): 1–12. https://doi.org/10.3390/molecules24132471

Hardiansyah, M. Y., Musa, Y., & Jaya, A. M. 2020. Identifikasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria pada Rizosfer Bambu Duri dengan Gram KOH 3 %. *Agrotechnology Research Journal*. 4(1): 41–46. https://doi.org/10.20961/agrotechresj.v4i1.40875

Hassan, S. T. S., Berchová-bímová, K., Petrá, J., & Hassan, K. T. S. 2017. *South African Journal of Botany Cucurbitacin B interacts synergistically with antibiotics against Staphylococcus aureus clinical isolates and exhibits antiviral activity against HSV-1*. 108: 90–94. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.10.001

Jian, C. C., Ming, H. C., Rui, L. N., Cordel, G. A., & Qiuz, S. X. 2005. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: Structures and biological activities. *Natural Product Reports*. 22(3): 386–399. https://doi.org/10.1039/b418841c

Jing, S., Zou, H., Wu, Z., Ren, L., Zhang, T., Zhang, J., & Wei, Z. 2020. Cucurbitacins: Bioactivities and synergistic effect with small-molecule drugs. *Journal of Functional Foods*. 72(May): 1–9. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104042

Kaushik, U., Aeri, V., & Mir, S. R. 2015. Cucurbitacins – An insight into medicinal leads from nature. *Pharmacognosy Reviews.* 9(17): 12–18. https://doi.org/10.4103/0973-7847.156314

Kubo, I., Himejima, M., & Chemical, S. 1992. Antimicrobial Activity of Green Tea Flavor Components and Their Combination Effects. *J. Agric. Food Chem*. 40(2): 245–248.

Latief, M., Utami, A., Fadhilah, N., Bemis, R., Amanda, H., Heriyanti, Rahayu, M. A., Yusnaidar, Syahri, W., & Muhaimin. 2018. Antioxidant activity from perepat plant (Sonneratia alba) ethanol leaf extract with Cap-e methods to overcome oxidative stress in thallasemia. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 10(9): 2160–2162.

Lestari, A. L. D., Noverita, & Permana, A. 2020. Daya Hambat Propolis Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Jurnal Pro-Life*. 7(3): 237–250.

Mann, A., Ibrahim, K., O. Oyewale, A., O. Amupitan, J., O. Fatope, M., & I. Okogun, J. 2012. Isolation and Elucidation of Three Triterpenoids and Its Antimycobacterial Activty of Terminalia Avicennioides. *American Journal of Organic Chemistry*. 2(2): 14–20. https://doi.org/10.5923/j.ajoc.20120202.03

Muadifah, A., Astutik, T. K., Amini, H. W., & Tarigan, I. L. 2019. Studi aktivitas ekstrak etanol dan sediaan gel daun melinjo ( Gnetum gnemon L ) sebagai

antibakteri terhadap Staphylococcus Aureus. *Chempublish Journal*. 4(2): 89–100.

Mulyanti, S., Musthapa, I., & Aisyah, S. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Aktif Antidiabeters Daging Buah Paria (Momordica charantia Linn). *Jurnal Sains Dan Teknologi Kimia*. 1(2): 1–9.

Nusaibah, N., Pangestika, W., & Herry, H. 2021. Pemanfaatan ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) sebagai bahan aktif krim anti acne. *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*. 14(1): 16–24. https://doi.org/10.29239/j.agrikan.14.1.16-24.

Pringgenies, D., Setyati, W. A., Wibowo, D. S., & Djunaedi, A. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeruju Acanthus ilicifolius terhadap Bakteri Multi Drug Resistant. *Jurnal Kelautan Tropis*. 23(2): 145–156. https://doi.org/10.14710/jkt.v23i2.5398

Rita, W. S. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoaria (Berg) Roscoe). *Jurnal Kimia*. 4(1): 20–26.

Saptiani, G., Prayitno, S. B., & Anggoro, S. 2013. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthusilicifolius*) Terhadap Vibrio harveyi Secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*. 7(1): 17–20. https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v7i1.558.

Sastrohamidjojo, H. 2014. *Kimia minyak atsiri*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Silverstein, Bassler, & Morill. 1984. *Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik*. Ed. ke-4. Erlangga.

Tarigan, I. L., Sari, A. K., Huda, C., Jovanncha, C., & Muadifah, A. 2020. Phytochemical Screening and Quantitative Analysis of Coleus arthropurpureus Ethyl Acetate Fraction and Antibacterial Activity Agains Staphylococcus aureus. *ALKIMIA : Jurnal Ilmu Kimia Dan Terapan*. 4(1): 17–23. https://doi.org/10.19109/alkimia.v4i1.5123

Veronita, F., Wijayati, N., & Mursiti, S. 2017. Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Binahong Serta Aplikasinya Sebagai Hand Sanitizer. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6(2): 138–144.

Zhang, Z., Chen, M., Yu, Y., Pan, S., & Liu, Y. 2018. Antimicrobial susceptibility among gram-positive and gram-negative blood-borne pathogens collected between 2012-2016 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *Antimicrobial Resistance and Infection Contro*. 7(1): 1–13. https://doi.org/10.1186/s13756-018-0441-y.

.