

Isolasi, Identifikasi Serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

*(Isolation, Identification And Testing Antibacterial Activity of Compounds Type triterpenoid Binahong Leaf Extract (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*)*

Agus Ria Murdianto, Enny Fachriyah, Dewi Kusriani

Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Diponegoro Semarang

Abstrak

Telah dilakukan isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antibakteri senyawa golongan triterpenoid pada daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen). Maserasi 1 kg serbuk kering daun Binahong dengan pelarut n-heksana menghasilkan ekstrak kental n-heksana sebanyak 43,2 g. Hasil uji fitokimia menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan bahwa ekstrak kental n-heksana positif mengandung triterpenoid. Pemisahan ekstrak kental n-heksana dengan kromatografi kolom menghasilkan isolat yang positif mengandung triterpenoid pada fraksi A yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* dengan daya hambat lemah pada konsentrasi hambat minimum 100 ppm dengan daya hambat lemah. Hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 239 nm. Berdasarkan spektrogram FT-IR menunjukkan adanya gugus OH, C=C, C-C, C=O, -C-H, -CH₃, -CH₂, dan C-O. Spektrogram LC-MS menunjukkan bahwa isolat memiliki bobot molekul 562 g/mol yang diduga merupakan senyawa 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester.

Kata kunci : Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen), triterpenoid, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Abstract

Isolation, identification, and antibacterial activity examination of triterpenoid compounds from leaves of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen). Maseration of 1 kg dry powder of those leaves using n-hexane respectively yielded 43,2 g. The n-hexane extracts obtained contained triterpenoids based on fitochemical test of Lieberman-Burchard. Compound separation of the n-hexane extract using column chromatography produced isolate which contained triterpenoids in fraction A. The isolate inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* at Minimal Inhibition Concentration 100 ppm with weak inhibition zone. The results of identification using UV-Vis spectrophotometry showed a maximum absorption at a wavelength of 239 nm. Based on FT-IR spectrogram shows the groups, there were OH, C=C, C-C, C=O, -C-H, -CH₃, -CH₂, and C-O. LC-MS spectrogram indicated that the isolated had a molecular weight 562 g / mol of suspected compounds 2,3,19,23-tetrahydroxy-12-ene-24,28-dimethyl ester.

Keywords : Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen), triterpenoids, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

I. PENDAHULUAN

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman binahong termasuk dalam famili *Basellaceae*. Di Indonesia tanaman ini secara empiris telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional, sedangkan di Vietnam tanaman ini merupakan makanan wajib. Khasiat tanaman binahong antara lain antiinflamasi dan antimikroba (Tshikalange dkk., 2005). Peneliti lain berhasil menemukan adanya protein dengan berat molekul besar pada binahong (23kDA) bernama *ancordin* yang mampu menstimulasi produksi nitrit oksida (Chuang dkk., 2007), mengurangi peradangan pada hematoma (Sumartiningsih, 2011).

Daun binahong mengandung senyawa saponin triterpenoid, flavonoid dan fenil propanoid (Rachmawati, 2008). Ekstrak daun binahong mempunyai aktivitas anti jamur terhadap *Candida albicans* (Rochani, 2009) dan penyembuh luka bakar pada punggung kelinci (Puryanto, 2009). Penelitian Yuswantina (2009) melaporkan bahwa ekstrak rizhoma binahong memiliki aktivitas penangkap radikal.

Menurut Rita (2010) senyawa golongan triterpenoid asam mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian tentang struktur senyawa triterpenoid lainnya pada daun binahong serta uji aktivitasnya sebagai antibakteri belum pernah dilakukan. Berdasarkan hal tersebut di atas, maka peneliti tertarik untuk meneliti jenis dan aktivitas anti bakteri senyawa golongan triterpenoid hasil isolasi dari daun binahong.

II. METODE KERJA

2.1 Bahan dan Alat

2.1.1 Bahan

Daun binahong, n-heksana (p.a dan teknis), kloroform (p.a dan teknis), etilasetat (p.a dan teknis), etanol (p.a dan teknis), benzena (p.a dan teknis), diklorometana (p.a dan teknis), karbon aktif, asam sulfat pekat, anhidrida asam asetat p.a, silika gel GF₂₅₄, silika gel 60, natrium hidroksida teknis, ekstrak ragi, tripton, natrium klorida, bubuk agar, bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Escherichia coli*, antibiotik tetrasiklin dan akuades.

2.1.2 Alat

Peralatan gelas standar, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, *chamber*, spektrometer LC-MS,

spektrofotometer *UV-Vis* (Shimadzu *UV-1601*), spektrofotometer *IR* (Shimadzu *Prestige-21*), lampu detektor *UV* (Spectroline *ENF-24/F*), neraca analitik (Kern-870), vakum *rotary evaporator* (Buchi-B480).

2.2 Cara Kerja

2.2.1 Pembuatan Simplisia

Sampel penelitian (daun binahong) dibersihkan, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dihaluskan sehingga diperoleh serbuk daun binahong.

2.2.2 Ekstraksi Sampel

Sebanyak 1kg simplisia dimaserasi dengan n-heksana. Ekstrak ditampung dalam erlenmeyer. Ekstrak kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana.

2.2.3 Uji Golongan Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 1 gram ekstrak kental n-heksana ditambahkan 10 mL kloroform. Larutan diambil 5 ml kemudian diuapkan dalam cawan penguap, ke dalam residu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrid dan 1 tetes asam sulfat pekat. Keberadaan triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah sedangkan warna biru-hijau menunjukkan adanya

steroid (Farnsworth, 1966; Ditjen POM, 1989).

2.2.4 Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid

Terhadap Isolat yang diperoleh dilakukan KLT dengan pengembang benzene:kloroform:diklorometan (3:1:1) menggunakan plat silika gel 60GF₂₅₄ sehingga diperoleh noda-noda isolat. Selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan KLT preparatif. Isolat triterpenoid dianalisis menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* dan *FTIR* serta spektrometer LC-MS.

2.2.5 Uji Antibakteri

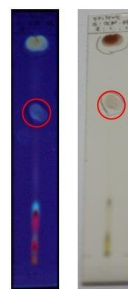
Kertas cakram berdiameter 5 mm dicelupkan pada isolat triterpenoid yang telah divariasikan konsentrasinya 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm yang kemudian diletakkan pada petridish yang telah diinokulasi

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli*. Inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah 24 jam akan terbentuk zona bening di sekitar cakram yang menunjukkan kemampuan dari senyawa uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sebagai pembanding menggunakan etil asetat (kontrol pelarut), akuades (kontrol negatif) dan antibiotik tetrasiklin (kontrol positif).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan berupa 20 kg daun binahong segar yang didapat dari BPTO Tawangmangu. Daun segar dicuci lalu dikering anginkan dan dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk daun binahong yang didapat seberat 1,25 kg dimaserasi menggunakan n-heksana. Filtrat hasil maserasi dikentalkan dengan *rotary vacuum evaporator* hingga didapat ekstrak seberat 43,27 gram.

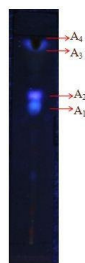
Penapisan fitokimia dilakukan sebagai langkah awal untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder pada tanaman binahong dalam ekstrak n-heksana. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak n-heksana positif mengandung triterpenoid dan steroid. Analisis pemeriksaan triterpenoid menggunakan KLT dengan pengembang campuran pelarut benzena : kloroform : diklorometana (3 : 1 : 1). Analisis KLT pada ekstrak n-heksana menunjukkan satu noda yang positif triterpenoid dengan fluoresensi berwarna biru kehijauan di bawah lampu UV 365 nm setelah disemprot LB dan secara *visible* berwarna merah (Wagner dan Bladt, 1996) yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1 Hasil KLT *n*-heksana positif triterpenoid dengan pengembang benzena : kloroform : DCM (3 : 1 : 1); (A) pada lampu UV λ_{365} nm dengan reagen semprot Liebermann-Buchard (LB); (B) secara *visible* setelah disemprot LB

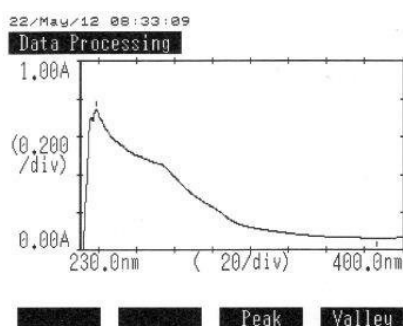
Ekstrak *n*-heksana kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel 60H sebagai fasa diam dan benzena : kloroform : diklorometana (3 : 1 : 1) sebagai fasa gerak. Ekstrak *n*-heksana yang digunakan sebanyak 4,23 gram dan tinggi silika 38 cm dengan diameter kolom 2,5 cm. Hasil kromatografi kolom menghasilkan 215 vial dan dibagi menjadi 4 kelompok fraksi yaitu fraksi A (1-26), fraksi B (27-60), fraksi C (61-186) dan fraksi D (187-215) berdasarkan pola noda yang sama. Dari keempat fraksi tersebut, fraksi A memiliki respon yang positif terhadap reagen semprot LB dengan fluoresensi berwarna biru kehijauan di bawah lampu UV 365 nm yang merupakan warna dari senyawa triterpenoid pada noda A₁ (Wagner dan Bladt, 1996). Fraksi A selanjutnya dilakukan KLT preparatif untuk mendapatkan senyawa triterpenoid.

KLT preparatif digunakan untuk mengambil senyawa dalam jumlah milligram untuk dapat dianalisis.



Gambar 2 KLT fraksi A positif triterpenoid

Data fitokimia dan KLT yang dihasilkan memberikan dugaan sementara bahwa noda uji merupakan senyawa triterpenoid. Oleh sebab itu, untuk memastikan dugaan tersebut dan menentukan struktur senyawa golongan triterpenoid yang terkandung dalam isolat A₁ diperlukan tambahan data spektroskopi UV-Vis, FTIR dan LC-MS.



Gambar 3 Spektra UV-Vis isolat A₁

Munculnya serapan pada panjang gelombang 239 nm merupakan transisi elektron $n-\sigma^*$ dari kromofor C=O dari gugus karbonil ester. Serapan landai pada panjang gelombang 273 nm

diakibatkan terjadinya transisi elektron dari $n-\pi^*$ yang disebabkan adanya ikatan rangkap C=O (Sastrohamidjojo, 2001).

Hasil analisis dengan spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada isolat A₁. Berdasarkan data interpretasi spektrogram FTIR pada Tabel 1.

Tabel 1 Interpretasi hasil FTIR isolat A₁

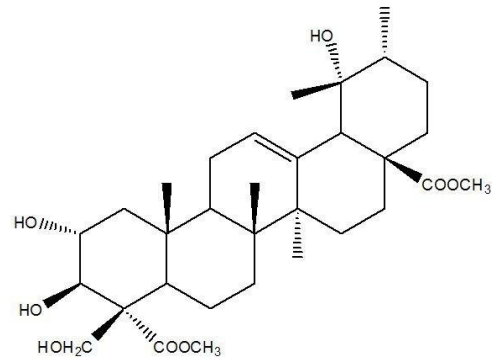
Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Jenis vibrasi
3448,72	Vibrasi ulur O-H
3013,88	Vibrasi ulur =C-H
2924,09	Vibrasi ulur -C-H
2854,65	Vibrasi ulur -C-H
1735,93	Vibrasi ulur C=O ester
1627,92	Vibrasi ulur C=C
1465,90	Vibrasi tekuk -C-H
1381,03	Vibrasi tekuk -C-H
1172,72	Vibrasi ulur C-C
1087,85	Vibrasi ulur C-O

Hasil Hasil analisis pola serapan FTIR terhadap isolat A₁ menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3448,72 cm⁻¹ yang merupakan serapan vibrasi ikatan O-H. Vibrasi ikatan ini diduga merupakan vibrasi dari gugus alkohol yang didukung dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 1087,85 cm⁻¹ dari vibrasi ulur C-O. Keberadaan serapan rentangan C-H alifatik ditunjukkan dengan adanya pita serapan yang tajam dengan intensitas kuat pada bilangan gelombang 2924,09 cm⁻¹ dan

2854,65 cm^{-1} , hal ini memberi petunjuk kemungkinan adanya gugus metil (CH_3) dan metilena (CH_2) yang diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk -C-H pada bilangan gelombang 964,41 cm^{-1} (Socrates, 1994). Dugaan ini diperkuat oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1465,90 cm^{-1} dan 1381,03 cm^{-1} yang merupakan serapan dari bengkokan -CH_2 dan -CH_3 yang mengindikasikan adanya senyawa triterpenoid (Mathias dkk., 2000). Adanya serapan pada 1172,72 mengindikasikan adanya vibrasi ulur C-C. Serapan kuat pada daerah bilangan gelombang 1735,93 cm^{-1} diduga karena adanya gugus fungsi C=O dari ester diperkuat pada bilangan gelombang 1087,85 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur C-O. Adanya serapan pada bilangan gelombang 1627,92 cm^{-1} diduga merupakan serapan vibrasi ulur ikatan C=C diperkuat dengan vibrasi ulur =C-H pada bilangan gelombang 3000,00 cm^{-1} .

Hasil spektogram LC-MS isolat A₁ diduga merupakan merupakan senyawa triterpenoid dengan berat molekul 562 g/mol yang dikalkulasikan untuk m/z 562,85 $[\text{M}+\text{H}]^+$ dan m/z 585,11 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Wang dkk (2001) serta Abe dan Yamauchi (1986) berhasil menemukan senyawa triterpenoid yang sama dari tumbuhan yang berbeda famili

dengan berat 562 g/mol yaitu 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester, sehingga diduga senyawa yang sama terdapat dalam *Anredera cordifolia* (Ten.) Steen, struktur dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester

Hasil analisis isolat A₁ menggunakan spektrofotometer UV-vis, FTIR dan spektrometer LC-MS menunjukkan harga λ_{max} sebesar 239 nm dan serapan landai 273 nm, gugus fungsi dari senyawa tersebut adalah OH, C-H, C=O, C-C, C=C, CH_2 , CH_3 dan C-O. Berat molekul isolat 562 g/mol yang ditunjukkan dengan adanya m/z 562,85 $[\text{M}+\text{H}]^+$ dan m/z 585,11 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Berdasarkan hasil analisis UV-vis, FTIR dan LC-MS, diduga isolat 1a merupakan senyawa triterpenoid 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester.

Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan terhadap isolat A₁. Hasil uji aktivitas antibakteri pada Tabel 2

Tabel 2 Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap isolat A₁

No	Konsentrasi Bahan Uji	Selisih Diameter				Hasil	Kategori
		Diameter Hambat (mm)		Hambat dengan Kontrol Pelarut (6 mm)			
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>		
1	2000 ppm	9	9	3	3	+	Lemah
2	1000 ppm	9	8	3	2	+	Lemah
3	500 ppm	8	7	2	1	+	Lemah
4	100 ppm	8	7	2	1	+	Lemah
5	50 ppm	0	0	-	-	-	Tidak Berdaya Hambat

menunjukkan bahwa isolat A₁ menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat lemah pada konsentrasi 100 ppm dan 500 ppm sebesar 2 mm serta pada konsentrasi 1000 ppm dan 2000 ppm sebesar 3 mm. Isolat A₁ menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan diameter hambat lemah pada konsentrasi 100 ppm dan 500 ppm sebesar 1 mm, pada konsentrasi 1000 ppm sebesar 2 mm dan pada konsentrasi 2000 ppm sebesar 3 mm. Bila dibandingkan dengan konsentrasi 50 ppm tetrasiklin yang mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat sebesar 21 mm dan 20 mm untuk bakteri *Escherichia coli*. Sesuai kategori daya hambat bakteri menurut Stout (1971) pada Tabel 3, maka dapat disimpulkan bahwa isolat triterpenoid A₁ dari ekstrak n-heksana daun binahong mempunyai aktivitas antibakteri yang lemah dengan konsentrasi hambat minimum sebesar 100-2000 ppm.

Tabel 3 Kategori daya hambat menurut Davis Stout

Daya Hambat Bakteri	Kategori
≥ 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

IV. KESIMPULAN

1. Senyawa yang telah diisolasi dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) merupakan senyawa triterpenoid berupa serbuk berwarna putih.
2. Analisis isolat triterpenoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan spektrometer LC-MS menunjukkan isolat mempunyai λ_{max} sebesar 239 nm dan serapan landai pada panjang gelombang 273 nm, mempunyai gugus fungsi OH, C-H, C=O, C-C, C=C, CH₂, CH₃ dan C-O, serta memiliki berat molekul sebesar 562 g/mol dan diduga merupakan senyawa 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester.

3. Hasil uji antibakteri dari isolat triterpenoid yang diperoleh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi hambat minimum sebesar 100-2000 ppm dengan daya hambat lemah.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Abe, F., Yamauchi, T., 1987, Trachelosperosides, Glycosides of 19 α -Hydroxyursane-Type Triterpenoids from *Trachelospermum asiaticum* (Trachelospermum. III), *Chem. Pharm. Bull.*, 35(5): 11748-1754
- Chuang, M.T., Lin, Y.S., Hou, W.C., 2007, Ancordin, The Major Vine, With Trypsin Inhibitory and Stimulatory Activities in Nitric Oxide Production, *Journal of Peptides*, 28: 1311-1316
- Davis, W.W., Stout, T.R., 1971, Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. I. Factors Influencing Variability and Error 1, *Appl Microbiol*, 22(4): 659-665
- Ditjen, P.O.M., dan R.I. Depkes., 1989, *Materia Medika Indonesia*, Depkes Publishers, Jakarta
- Farnsworth, N.R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, 245-265
- Mathias, L., Vieira, J.C., Filho, R.B., Filho, E.R., 2000, A New Pentacyclic Triterpene Isolated from *Myroxylon balsamum* (syn. *Myroxylon peruiferum*), *Braz. Chem. Soc.*, 11(2):195-198
- Puryanto, K., 2009, Uji Aktivitas Gel Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steennis) sebagai Penyembuh Luka Bakar pada KulitPunggung Kelinci, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Rachmawati, S., 2008, Studi Makroskopi dan Skinning Fitokimia Daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, *Skripsi*, Universitas Airlangga
- Rita, W.S., 2010, Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe), *Jurnal Kimia*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, 4(1): 20-26
- Rochani, N., 2009, Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) Terhadap *Candida albicans* Serta Skinning Fitokimianya, *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah, Surakarta
- Sastrohamidjojo. 2001. *Dasar-Dasar Spektrofotokopi*, edisi kedua, cetakan kedua, Liberty, Yogyakarta
- Socrates, G., 1994, *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts*, New York, John Wiley and Sons
- Sumartiningsih, S., 2011, The Effect of Binahong to Hematoma, *World*

Academy of Science, Engineering and Technology, 78: 743-745

Tshikalange, T.E., Meyer, J.J.M., Hussein, A.A., 2005, Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases, *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 515-519

Wagner, H., dan Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis-A Thin Layer Chromatography Atlas*, second edition, Springer Private Limited, India

Wang, B.G., Zhu, W.M., Li, X.M., Jia, Z.J., Hao, X.J., 2000, Rubupungenosides A and B, Two Novel Triterpenoid Saponin Dimers from the Aerial Parts of *Rubus pungens*, *Journal of Natural Product*, 63(6): 851-854

Yuswantina, R., 2009, Uji Aktivitas Penangkap Radikal dari Ekstrak Petroleum eter, Etil asetat, dan Etanol Rizhoma Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Stennis) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil), *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta