

Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Daun Tembelekan (*Lantana camara* Linn)

Identification and Test of the Bioactivity of Secondary Metabolites Compound Contained in Chloroform Extract of Tembelekan (*Lantana camara* Linn) Leaf.

¹⁾Nurrahmaniah, ²⁾Sumiati Side, ³⁾Iwan Dini

^{1, 2, 3)} Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg Tata Raya Makassar, Makassar 90224
Email : nurrahmaniah12@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menguji bioaktivitas senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kloroform daun tembelekan (*L. camara* Linn). Penelitian dilakukan melalui beberapa tahap diantaranya ekstraksi, fraksinasi, pemurnian, dan identifikasi. Hasil penelitian diperoleh isolat berupa kristal putih berbentuk jarum dengan titik leleh 230-232°C sebanyak 12,2 mg, uji dengan pereaksi Liebermann-Burchard memberikan warna merah ungu yang menunjukkan positif terpenoid. Spektrum IR menunjukkan bilangan gelombang (cm⁻¹) yakni 3317 (OH), 2926, 2858, 1463, 1438 (CH₃ dan CH₂), 1737, 1695 (C=O), 1230, 1139 (C–O), dan 1647 (C=C). Elusidasi struktur senyawa dengan spektroskopi IR, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR menunjukkan isolat memiliki kemiripan dengan senyawa triterpenoid lantaden B. Isolat bersifat bioaktif terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan luas rata-rata daya hambat masing-masing yaitu 1,48 mm dan 9,86 mm.

Kata kunci: *L. camara* Linn, triterpenoid, lantaden B, antibakteri, *S. aureus*, *E. coli*

ABSTRACT

The aim of this research is to identify and to test the bioactivity of the secondary metabolite compound contained in chloroform extract tembelekan (*L. camara* Linn) leaf. This research consisted of several stages: extraction, fractionation, purification, and identification. The research obtained isolate of white-needle crystal, with melting point at 230-232°C had 12,2 mg weight, and the test with Liebermann-Burchard reagent gave a purple-red colour, indicated terpenoid positively. IR spectrum showed the wavelength (cm⁻¹): 3317 (OH), 2926, 2858, 1463, 1438 (CH₃ and CH₂), 1737, 1695 (C=O), 1230, 1139 (C–O), and 1647 (C=C). Based on the elucidation of compound structure with IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopy indicate that isolate has similarity with triterpenoid compound lantadene B. The isolate had bioactive characteristic to *S. aureus* and *E. coli* bacteria with inhibitor diameter of 1,48 mm and 9,86 mm.

Keywords: *L. camara* Linn, triterpenoid, lantadene B, antibacterial, *S. aureus*, *E. coli*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang hijau dan subur dimana tumbuh beraneka macam tumbuhan. Keanekaragaman tumbuhan dapat dimanfaatkan dalam semua aspek kehidupan manusia diantaranya sebagai pelengkap kebutuhan seperti bahan pewarna, pestisida, pewangi, bahan kosmetik dan bahan aktif pada obat-obatan. Tumbuh-tumbuhan memiliki kemampuan untuk mensintesis senyawa metabolit sekunder aromatik seperti fenol, asam fenolat, kuinon, flavon, flavonoid, flavonol, tanin, dan kumarin. Komponen dengan struktur fenolik seperti karvakrol, eugenol, dan timol bersifat aktif melawan bakteri patogen (Gurjar *et al.*, 2012).

Pengetahuan tentang pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional diperoleh dari pengalaman dan kebiasaan seseorang yang kemudian diturunkan pada generasi berikutnya, sehingga pengetahuan yang berasal dari pengalaman dan kebiasaan tersebut hanya menjadi pengetahuan masyarakat setempat. Tumbuhan yang berkhasiat obat juga dianggap hampir tidak memiliki efek samping yang membahayakan (Hara, 2013).

Hasil analisis komposisi kimia menunjukkan bahwa pada tumbuh-tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda. Sebanyak 95% tumbuhan mengandung polifenol, 80% mengandung flavonoid, 77% mengandung glikosida, 69% mengandung steroid, 67% mengandung saponin, 61% mengandung tanin, 57% mengandung alkaloid, dan 15%

mengandung anthranoid (Amusan *et al.*, 2007). Kehadiran terpena pada tumbuh-tumbuhan dimanfaatkan sebagai agen antitumor, beberapa senyawa terpena bersifat sitotoksik pada sel tumor (Mohammed *et al.*, 2013).

L. camara Linn merupakan tumbuhan yang tumbuh liar di berbagai tempat yang jarang diperhatikan orang. Tumbuh sebagai gulma dan memiliki aroma yang kurang sedap. Meskipun begitu warna bunganya cukup menarik dan bervariasi sehingga dimanfaatkan orang sebagai tanaman pagar (Rahajoe & Windadri, 1996).

Penelitian yang dilakukan oleh Hidayati *et al.* (2008), kandungan saponin dan flavonoid ekstrak etanol *L. camara* Linn tertinggi berturut-turut dapat dijumpai pada organ daun, akar, dan buah, sedangkan kandungan minyak atsiri tertinggi berturut-turut pada organ daun, buah, dan akar. Ekstrak alkohol menunjukkan aktivitas antibakteri melawan *E. coli*, *B. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*. Studi fitokimia menunjukkan adanya flavonoid, minyak atsiri, triterpenoid, alkaloid, dan karbohidrat. Kehadiran triterpenoid bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri pada tumbuhan ini (Mani *et al.*, 2010).

Ekstrak metanol dari daun memiliki toksisitas yang relatif tinggi yang berpotensi sebagai antitumor (Bulan, 2003). Tahun 2008, Bulan *et al.* mengisolasi senyawa lantaden X_R yaitu suatu senyawa turunan lantaden dari daun *L. camara* Linn berbunga merah dan bersifat sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 IC₅₀ 2,23 µg/mL.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti terdahulu menyatakan bahwa ekstrak kloroform daun tumbuhan *L. camara* Linn terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan adanya daya hambat yang tinggi dan potensial mengandung senyawa antibakteri (Dini *et al.*, 2010).

Berdasarkan uraian tersebut di atas menunjukkan adanya potensi ditemukannya senyawa antibakteri pada ekstrak tumbuhan *L. camara* Linn sehingga peneliti menganggap perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji kandungan senyawa metabolit sekunder khususnya ekstrak kloroform pada daun tumbuhan *L. camara* Linn dan menguji aktifitasnya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain neraca analitik, blender, pengayak, penangas air, hot-plate, oven, plat tetes, pinset, pipet tetes, chamber, gunting, pensil, cutter, mistar, statif dan klem, lampu UV 254 – 365 nm, pipa kapiler, dan alat uji titik leleh. Alat-alat maserasi sampel seperti wadah maserasi, corong plastik, penyaring Buchner, pompa vakum, dan alat *rotary evaporator*. Alat-alat gelas seperti gelas kimia, corong biasa, batang pengaduk, gelas ukur, labu Erlenmeyer, corong pisah, botol vial, alat kromatografi kolom cair vakum (KKCV) dan kromatografi kolom flash (KKF). Alat uji spektroskopi diantaranya spektrometer IR dan NMR. Adapun alat uji bioaktivitas yaitu cawan

petridish, inkubator, autoklaf, tabung reaksi dan rak.

Bahan-bahan yang digunakan dalam diantaranya serbuk halus daun *L. camara* Linn, pelarut organik seperti n-heksana, etil asetat, metanol, aseton, kloroform, reagen penampak noda serum sulfat (CeSO_4), reagen seperti FeCl_3 , Mayer, Wagner, dan Liebermann-Burchard. Bahan-bahan lain seperti plat kromatografi lapis tipis (KLT) berlapis silika gel G 60 F₂₅₄, silika gel G 60 7733 (0,2-0,5 mm) untuk infreg, silika gel G 60 7734 (0,063-0,200 mm) untuk KKF, silika gel 60 H untuk KKCV, kertas saring Whatman 41, aluminum foil, tissue, selotip dan label. Bahan untuk uji bioaktivitas meliputi *nutrient agar*, *nutrient broth*, kertas cakram, kapas, spiritus, aquadest, kloramfenikol, bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

B. Prosedur Kerja

1. Ekstraksi

Daun *L. camara* Linn yang diambil di Kec. Barombong Kab. Gowa Sulawesi Selatan dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang, dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan dan ditimbang, diperoleh 4,7 kg serbuk halus daun. Selanjutnya dimaserasi dengan metanol selama 2x24 jam, diperoleh maserat metanol sebanyak $\pm 8,8$ L. Maserat disaring menggunakan penyaring Buchner dengan bantuan pompa vakum. Ekstrak metanol dipekatkan dengan *evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak ± 493 mL. Ekstrak kental metanol kemudian dipartisi dengan kloroform. Ekstrak kloroform dipekatkan dengan

evaporator hingga diperoleh ekstrak kental kloroform, selanjutnya diuapkan pada suhu ruang hingga diperoleh ekstrak kloroform padat sebanyak 14,303 g.

2. Fraksinasi

Ekstrak kloroform dianalisis secara KLT menggunakan eluen n-heksana, kloroform, dan etil asetat sebagai fase gerak, lalu dideteksi dengan lampu UV dan penyemprotan dengan larutan CeSO_4 , kemudian dipanaskan di atas hot-plate.

Sebanyak ± 9 g ekstrak kloroform difraksinasi secara KKCVC menggunakan eluen n-heksana, etil asetat, dan kloroform sebagai fasa gerak. Fraksinasi dilakukan dengan mengkombinasikan eluen tersebut yang ditingkatkan kepolarannya berdasarkan kenaikan konstanta dielektrik. Hasil fraksinasi sebanyak 98 fraksi dianalisis secara KLT, fraksi-fraksi yang memiliki pola noda dan kromatogram yang sama (mirip) digabung hingga diperoleh 18 fraksi gabungan. Fraksi-fraksi diuapkan pada suhu ruang hingga diperoleh padatan.

Fraksi gabungan F dilanjutkan ke tahap selanjutnya yaitu analisis secara KKF. Sebanyak 238,7 mg fraksi F difraksinasi menggunakan eluen n-heksana : etil asetat sebagai fasa gerak. Hasil fraksinasi diperoleh sebanyak 65 fraksi lalu diuji KLT. Fraksi-fraksi yang memiliki pola noda dan kromatogram yang sama digabung hingga diperoleh 2 fraksi gabungan, selanjutnya diuapkan hingga diperoleh padatan.

3. Pemurnian dan identifikasi

Fraksi F1 sebanyak 72,0 mg direkristalisasi dengan eluen n-

heksana : etil asetat (8:2), diperoleh isolat berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih sebanyak 12,2 mg. Kemurnian isolat ditentukan dengan melakukan uji KLT tiga macam sistem eluen dan uji titik leleh. Isolat dapat dikatakan telah murni jika muncul noda tunggal pada plat KLT.

Isolat diuji menggunakan pereaksi FeCl_3 , Liebermann-Burchard, Mayer, dan Wagner untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder isolat. Identifikasi lebih lanjut menggunakan spektroskopi IR dan NMR.

4. Uji Bioaktivitas

Kertas cakram dimasukkan ke dalam sampel (isolat, kontrol positif, dan kontrol negatif) yang akan diuji bioaktivitasnya, kemudian diletakkan di atas permukaan cawan petri berisi NA yang masing-masing telah diinokulasi bakteri *S.aureus* / *E. coli* sebanyak 1 mL. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Selanjutnya diamati zona hambat yang terbentuk. Zona hambat dapat diamati dengan tidak terdapatnya pertumbuhan bakteri (zona bening) di sekitar kertas cakram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi

Daun *L. camara* Linn dibersihkan dan dikeringkan untuk menghilangkan kandungan air pada sampel. Pengeringan sampel dilakukan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan tanpa terkena sinar matahari langsung untuk mencegah terjadinya kerusakan terhadap struktur senyawa yang terdapat pada sampel. Sampel

yang telah kering dihaluskan untuk memperluas bidang permukaan sampel sehingga memudahkan dalam melarutkan dan mengekstrak senyawa metabolit pada proses ekstraksi. Selanjutnya dimaserasi dengan metanol. Pelarut polar seperti metanol bersifat universal karenadapat mengekstrak senyawa yang bersifat polar dan non-polar. Maserasi dilakukan selama 2x24 jam, diperoleh maserat sebanyak $\pm 8,8$ liter. Maserat disaring dengan penyaring Buchner, lalu dipekatkan dengan *evaporator* untuk memisahkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak ± 493 mL.

Ekstrak kental metanol dipartisi menggunakan pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1, volume 100 mL. Senyawa yang kepolarannya lebih tinggi tetap tinggal pada pelarut metanol, sebaliknya senyawa dengan tingkat kepolaran yang lebih rendah akan terdistribusi ke dalam pelarut kloroform.

Ekstrak kloroform dianalisis untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder menggunakan pereaksi FeCl_3 (uji fenolik), Liebermann-Burchard (uji steroid dan terpenoid), Mayer (uji alkaloid), dan Wagner (uji alkaloid). Hasil uji golongan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Golongan Ekstrak Kloroform

Pereaksi	Pengamatan	Keterangan
FeCl_3	hijau $\rightarrow$ hitam, endapan hijau	(+) Flavonoid
Liebermann-Burchard	hijau $\rightarrow$ hijau bening	(+) Steroid
Mayer	hijau $\rightarrow$ bening, endapan hijau	(-) Alkaloid

Wagner hijau $\rightarrow$ coklat, endapan coklat (+) Alkaloid

B. Fraksinasi

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa menurut tingkat kepolarannya. Ekstrak kloroform terlebih dahulu diidentifikasi secara KLT menggunakan kombinasi eluen n-heksana : etil asetat dan n-heksana : kloroform pada berbagai perbandingan sebagai fase gerak. Hasil KLT yang diperoleh pada kombinasi eluen n-heksana : etil asetat (7:3) menunjukkan pola pemisahan noda yang baik dengan penampak noda CeSO_4 .

Sebanyak ± 9 g ekstrak kloroform difraksinasi secara KKC, dimulai dengan eluen n-heksana 100% hingga etil asetat 100%. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuji secara KLT dengan kombinasi eluen n-heksana : etil asetat. Fraksi yang menunjukkan pola kromatogram yang sama (mirip) digabung ke dalam satu fraksi gabungan.

Fraksi F difraksinasi lebih lanjut dengan KKF. Terlebih dahulu fraksi diidentifikasi dengan KLT menggunakan eluen n-heksana : etil asetat untuk mengetahui komponen senyawa dalam fraksi. Hasil KLT diperoleh pada eluen n-heksana : etil asetat (8:2) menunjukkan pola pemisahan noda yang baik.

Fraksinasi menggunakan eluen n-heksana 100% hingga n-heksana : etil asetat (5:5) dan diperoleh sebanyak 65 fraksi. Fraksi yang berbentuk kristal diuji KLT, fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama dikelompokkan hingga diperoleh 2 fraksi gabungan (F1 dan F2).

C. Pemurnian

Fraksi F1 sebanyak 72,0 mg direkristalisasi dengan eluen n-heksana : etil asetat (8:2) menghasilkan isolat berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih sebanyak 12,2 mg. Rekristalisasi dilakukan secara berulang-ulang hingga diperoleh kromatogram dengan satu noda tunggal pada plat KLT.

Uji kemurnian dilakukan dengan analisis KLT tiga macam eluen yang bertujuan untuk mengetahui kemurnian isolat yang ditunjukkan dengan munculnya noda tunggal pada plat KLT. Uji titik leleh menunjukkan bahwa isolat mulai meleleh pada suhu 230°C dan meleleh secara keseluruhan pada suhu 232°C. Hal ini menunjukkan isolat telah relatif murni.

D. Identifikasi

1. Uji golongan

Uji golongan dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan hasil positif terpenoid dengan perubahan dari bening menjadi merah ungu.

2. Uji spektroskopi IR

Spektrum IR isolat memberikan serapan pada daerah 3317,56 cm^{-1} yang ditandai dengan pita agak lebar dengan intensitas sedang yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur O–H asam. Serapan tajam pada daerah 2926,01 dan

2858,51 cm^{-1} dengan intensitas kuat diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C–H pada CH_3 dan CH_2 . Hal ini menunjukkan bahwa isolat mengandung gugus metil dan metilen alifatik. Keberadaan gugus metil dan metilen diperkuat oleh adanya vibrasi tekuk pada daerah 1463,97 dan 1438,90 cm^{-1} , sedangkan vibrasi tekuk pada daerah 1382,96 cm^{-1} merupakan pita serapan yang khas untuk gugus geminal dimetil – $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ pada senyawa triterpenoid. Pita serapan pada 970,19 cm^{-1} dengan intensitas lemah menandakan adanya tekukan gugus $=\text{C}-\text{H}$ dan serapan tajam pada 1647,21 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk dari $\text{C}=\text{C}$ non-konjugasi dengan intensitas sedang.

Selanjutnya pita serapan pada 1737,86 cm^{-1} diidentifikasi sebagai vibrasi ulur dari gugus karbonil $\text{C}=\text{O}$ ester yang didukung oleh serapan C–O pada daerah 1230,58 cm^{-1} dengan intensitas sedang, sedangkan serapan tajam dan kuat pada 1695,43 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur dari $\text{C}=\text{O}$ keton.

Data posisi serapan, bentuk pita, intensitas dan karakteristik serapan dari spektrum infra merah isolat dipaparkan dalam Tabel 2 dan Gambar 1.

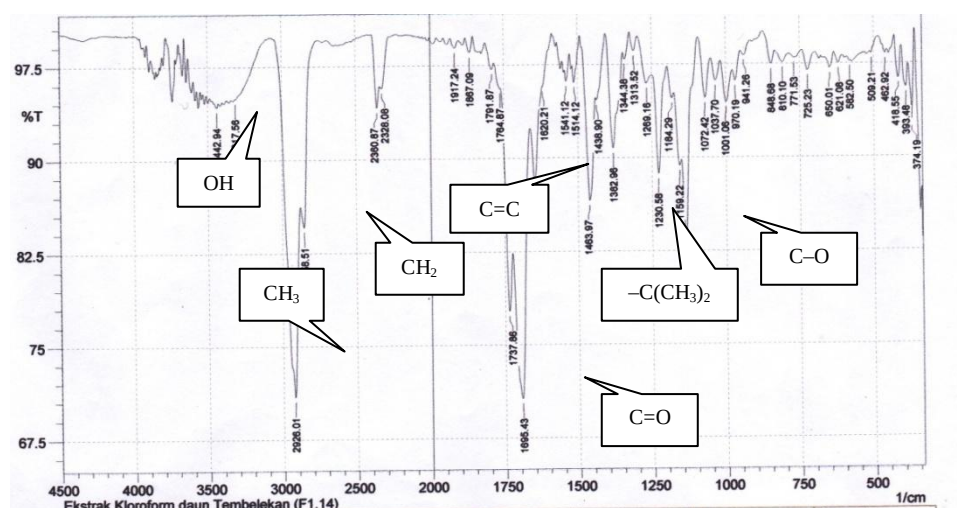
Tabel 2. Interpretasi Spektrum Infra Merah Isolat F1

Posisi serapan (ν , cm^{-1})	Bentuk pita	Karakteristik serapan	Intensitas
3317,56	Melebar	–OH asam (lit. $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$)	Sedang
2926,01;2858,51	Tajam	–CH pada CH_2 dan CH_3 (lit. $2960 - 2850 \text{ cm}^{-1}$)**	Kuat
1737,86	Tajam	$\text{C}=\text{O}$ ester (lit. $1750 - 1735 \text{ cm}^{-1}$)**	Kuat

1695,43	Tajam	C=O keton (lit. 1715 - 1680 cm^{-1})**	Kuat
1647,21	Tajam	C=C (lit. 1680 - 1620 cm^{-1})**	Sedang
1463,97;1438,90	Tajam	-CH pada CH_3 dan CH_2 (lit. 1470 - 1430 cm^{-1})**	Sedang
1382,96	Tajam	-C(CH_3) ₂ (lit. $\sim 1380 \text{ cm}^{-1}$)**	Sedang
1230,58;1139,93	Tajam	C-O (lit. 1300 - 1000 cm^{-1})*	Sedang
1072,42	Tajam	CH_2 pada sistem lingkaran triterpen ($\sim 1070 \text{ cm}^{-1}$)*	Lemah
970,19	Tajam	=CH (lit. 970 - 960 cm^{-1})**	Lemah

Sumber : *) Bulan, 2002

**) Williams & Fleming, 1973



Gambar 1. Spektrum Infra Merah Isolat F1

3. Uji spektroskopi ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR

Analisis dengan spektroskopi ^1H -NMR bertujuan untuk mengetahui jumlah dan posisi proton dengan menggunakan pelarut CDCl_3 (deuterokloroform) dan standar TMS (tetrametilsilena). Spektroskopi ^{13}C -NMR untuk mengetahui jumlah atom karbon dengan tipe yang berbeda dalam molekul. Spektrum ^{13}C -NMR memberikan informasi tentang atom karbon suatu senyawa, apakah metil, metilen, metin, atau karbon kuartener.

Spektrum ^1H -NMR pada geseran kimia δH 0,863 – 2,150 ppm merupakan karakteristik untuk geseran kimia proton metil dan

metilen. Pergeseran kimia dipengaruhi oleh elektronegativitas atom terdekat. Atom yang memiliki keelektronegatifan tinggi seperti oksigen dan nitrogen atau halogen dapat menurunkan densitas elektron dan menggeser signal ke daerah *downfield*.

Signal pada δH 5,584 ppm menunjukkan adanya proton atom C sp^2 (=C-H) yang didukung oleh spektrum ^{13}C -NMR pada δC 116,0 ppm. Terdapat pergeseran kimia pada δH 5,399 ppm yang merupakan geseran kimia proton atom C sp^2 dan diperkuat oleh geseran kimia spektrum ^{13}C -NMR pada δC 122,5 ppm.

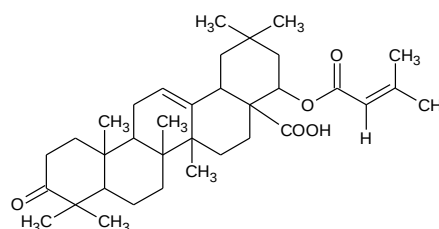
Studi literatur yang dilakukan dengan membandingkan spektrum

^1H -NMR isolat dengan spektrum ^1H -NMR lantaden B, diperoleh pada senyawa lantaden B terdapat suatu multiplet pada δH 2,3417 – 2,6039 ppm untuk proton metilen ($-\text{CH}_2$) pada atom C-2, sedangkan pada isolat multiplet terdapat pada δH 2,353 – 2,591 ppm. Selanjutnya, pada δH 3,0072 – 3,0488 ppm terdapat puncak duplet untuk proton metin ($-\text{CH}$) pada atom C-18, dan pada isolat puncak duplet terdapat pada δH 3,044 – 3,065 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat memiliki pergeseran kimia yang hampir mirip dengan lantaden B, selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Analisis spektroskopi ^{13}C -NMR menunjukkan bahwa isolat mempunyai 35 atom karbon. Terdapat tiga pergeseran kimia pada medan rendah (downfield), terdiri dari geseran kimia untuk gugus $\text{C}=\text{O}$ keton pada δC 217,6 ppm, signal

untuk gugus $\text{C}=\text{O}$ karboksilat pada δC 176,3 ppm, dan signal pada δC 165,3 ppm untuk gugus $\text{C}=\text{O}$ ester. Perbandingan spektrum ^{13}C -NMR isolat F1 dengan ^{13}C -NMR lantaden B dipaparkan pada Tabel 4.

Lantaden B (asam 22- β -dimetilakriloiloksi-3-okso-olean-12-en-28-olat) mempunyai rumus molekul $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_5$, merupakan isomer dari lantaden A (Sharma & Dawra, 1991 dalam Bulan, 2002). Struktur senyawa lantaden B dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Senyawa Lantaden B

Tabel 3. Data Perbandingan ^1H -NMR Isolat F1 dengan ^1H -NMR Lantaden B (Suthar *et al.*, 2014)

No.	F1, pelarut CDCl_3	Lantaden B, pelarut CDCl_3	
	Geseran kimia, δH (ppm)	Geseran kimia, δH (ppm)	Posisi Atom H
1.	5,584	5,5577	H pada C-32
2.	5,399 – 5,413	5,3785	H pada C-12
3.	5,055 – 5,067	5,0404	H pada C-22
4.	3,044 – 3,065	3,0072 – 3,0488	H pada C-18
5.	2,353 – 2,591	2,3417 – 2,6039	H pada C-2
6.	1,182	1,1754	H pada C-30
7.	1,092	1,0906	H pada C-29
8.	1,067	1,0656	H pada C-24
9.	1,051	1,0486	H pada C-23
10.	1,021	1,0027	H pada C-27
11.	0,892	0,8845	H pada C-26
12.	0,863	0,8388	H pada C-25

Tabel 4. Data Perbandingan ^{13}C -NMR Isolat F1 dengan ^{13}C -NMR Lantaden B (Suthar *et al.*, 2014)

Peak	F1	Lantaden B	Dugaan	Peak	F1	Lantaden B	Dugaan
1	15,1	15,16	C-25	19	38,8	38,54	C-18
2	16,8	16,85	C-24	20	39,2	39,17	C-1
3	19,6	19,52	C-26	21	39,3	39,24	C-8
4	20,2	20,25	C-34	22	42,1	42,05	C-14

5	21,5	21,50	C-6	23	46,0	45,97	C-19
6	23,6	23,56	C-11	24	46,9	46,87	C-4
7	24,1	24,13	C-16	25	47,5	47,45	C-9
8	25,8	25,77	C-30	26	50,6	50,57	C-17
9	26,3	26,28	C-27	27	55,4	55,30	C-5
10	26,5	26,44	C-23	28	75,1	75,20	C-22
11	27,4	27,46	C-35	29	116,0	115,96	C-32
12	27,7	27,59	C-15	30	122,5	122,37	C-12
13	30,1	30,07	C-20	31	143,1	143,09	C-13
14	32,3	32,26	C-7	32	157,3	157,16	C-33
15	33,8	33,75	C-29	33	165,3	165,33	C-31
16	34,2	34,16	C-2	34	176,3	178,84	C-28
17	36,8	36,77	C-10	35	217,6	217,77	C-3
18	37,8	37,63	C-21				

E. Uji Bioaktivitas

Uji bioaktivitas bertujuan untuk mengetahui keefektifan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian daya hambat pertumbuhan bakteri menggunakan metode difusi dengan menggunakan kertas saring berdiameter 6 mm. Pengujian dilakukan menggunakan isolat, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kontrol positif (kloramfenikol) digunakan sebagai acuan pada penentuan keaktifan ekstrak sebagai antibakteri, sedangkan kontrol negatif (kloroform) digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap aktivitas isolat pada bakteri uji.

Terlebih dahulu kertas cakram dijenuhkan dalam sampel, lalu diletakkan di atas media yang telah diinokulasi bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C, selanjutnya diamati dan diukur luas zona bening yang terbentuk. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 3.

Tabel 5. Luas Zona Hambat Isolat F1 terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Perlakuan	Rata-rata luas zona hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Kontrol positif	22,15	36,87
Kontrol negatif	0,00	0,00
Isolat	1,48	9,86

Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa isolat bersifat bioaktif terhadap bakteri uji yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Semakin luas diameter zona hambat yang dihasilkan, maka semakin besar potensi antibakteri suatu sampel. Jika tidak terbentuk zona hambat dimungkinkan karena sampel tidak dapat melewati dinding sel bakteri sehingga tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri tersebut.

Isolat merupakan golongan senyawa triterpenoid. Senyawa ini diketahui berpotensi sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein. Senyawa triterpenoid mudah larut dalam lipid. Hal ini memungkinkan senyawa ini mudah dalam menembus dinding sel bakteri

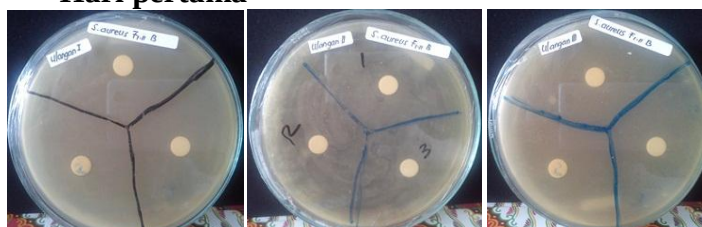
Gram positif maupun Gram negatif (Rosyidah *et al.*, 2010).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kemampuan isolat dalam menghambat bakteri uji lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti konsentrasi sampel, komposisi bahan aktif sampel, aktivitas mikroorganisme terhadap sampel. Davis & Stout (1971) mengemukakan bahwa ketentuan antibakteri adalah sebagai berikut: ≥ 20 mm (sangat kuat), 10-20 mm (kuat), 5-10 mm (sedang), dan ≤ 5 mm (lemah). Dengan memperhatikan luas zona bening yang terbentuk, aktivitas isolat terhadap bakteri *S. aureus* sangat kecil (lemah) sedangkan terhadap bakteri *E. coli* memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri tersebut (dapat menghambat atau mengganggu metabolisme bakteri) dengan kategori sedang. Hasil yang sama juga diperoleh Ganjewala *et al.* (2009) dimana ekstrak daun dan bunga *L. camara* Linn memperlihatkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *E. coli*, *B.*

subtilis, dan *P. aeruginosa* namun rendah pada *S. aureus*.

Menurut Winarno *et al.* (2012), bakteri *S. aureus* (Gram positif) memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana, yaitu berlapis tunggal dengan kandungan lipid yang rendah (1-4%). Struktur dinding sel *E. coli* (Gram negatif) lebih kompleks dimana terdiri atas tiga lapisan, diantaranya lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan dengan kandungan lipid yang tinggi yaitu 11-12%. Oleh sebab itu, daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* seharusnya lebih besar karena sampel dapat menembus dinding sel dengan mudah. Hal ini terjadinya kemungkinan bahwa terdapat mekanisme penghambatan lain selain dari kerusakan membran sel yang disebabkan oleh senyawa antibakteri. Rusaknya dinding sel menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri, dan pada akhirnya bakteri akan mati.

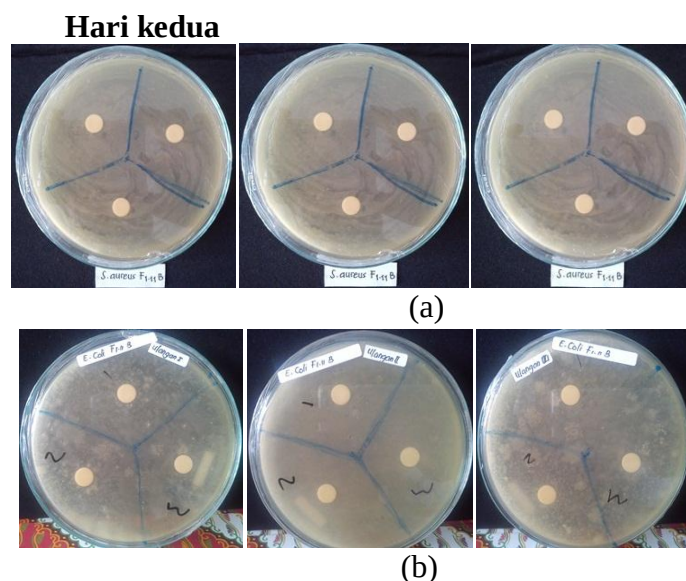
Hari pertama



(a)



(b)



Gambar 3. Uji Bioaktivitas Isolat F1 terhadap Bakteri (a) *S. aureus* dan (b) *E. coli*.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh senyawa hasil isolasi dari ekstrak kloroform daun *L. camara* Linn yang diidentifikasi sebagai senyawa triterpenoid yaitu lantaden B. Hal ini didukung oleh beberapa data diantaranya: uji golongan, uji spektroskopi IR, dan spektroskopi ^1H dan ^{13}C -NMR. Senyawa tersebut bersifat bioaktif terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan luas zona hambat berturut-turut yaitu 1,48 mm dan 9,86 mm.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka peneliti menyarankan:

1. Perlu dilakukan isolasi terhadap fraksi lain agar dapat diperoleh senyawa baru.
2. Perlu dilakukan uji bioaktivitas terhadap bakteri lain penyebab luka kulit.

DAFTAR PUSTAKA

- Amusan, O.O.G., N.A. Sukati, P.S. Dlamini, & F.G. Sibandze. 2007. *Some Swazi Phytomedicines and Their Constituents*. Afr. J. of Biotechnol. Vol 6(3): 267-272.
- Bulan, R. 2002. *Lantaden X_R Glikosida, Suatu Komponen Daun Lantana camara L., yang Sitotoksik terhadap Lini Sel L1210*. Disertasi. Bandung: ITB.
- Bulan, R. 2003. *Skirining Toksisitas Beberapa Fraksi Metanol dari Daun Lantana camara L.* Jurnal Sains Kimia Vol. 7, No. 2, 2003: 51-54.
- Bulan, R., S. Soedigdo, S. Achmad, & Buchari. 2008. *Lantaden X_R Glikosida, Suatu Komponen Daun Lantana camara L., yang Sitotoksik terhadap Lini Sel L1210*. J. Matematika dan Sains, Vol. 9 No. 1: 209-213.

- Davis, W.W. & T.R. Stout. 1971. *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay*. Applied Microbiology, Vol. 22, No. 4, p. 659-665.
- Dini, I., Muharram, & Faika, S. 2010. *Penelusuran Senyawa Metabolit Sekunder Antibakterial Tumbuhan Lantana camara Linn untuk Penanggulangan Penyakit Infeksi pada Luka*. Makassar: UNM.
- Ganjewala, D., S. Sam, & K.H. Khan. 2009. *Biochemical Composition and Antibacterial Activities of Lantana camara Plants with Yellow, Lavender, Red, and White Flowers*. Eurasia. J. Bio. Sci. 3: 69-77.
- Gurjar, M.S., S. Ali, M. Akhtar, & M.S. Singh. 2012. *Efficacy of Plant Extracts in Plant Disease Management*. Agr. Sci. Vol. 3, No. 3: 425-433.
- Hara, B. 2013. *Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat Tradisional oleh Masyarakat Suku Maybrat di Kampung Sire Distrik Mare Selatan Kabupaten Maybrat*. Skripsi. Manokwari: Prodi Kehutanan Universitas Negeri Papua.
- Hidayati, N.A., Listyawati, S., & Setyawan, A.D. 2008. *Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Lantana camara L. pada Tikus Putih (Rattus norvegicus L.)*. Jantan. Bioteknologi 5(1): 10-17.
- Mani, L.M., S.C. Dilip. C., A.K. Azeem, D. Raj, L. Mathew, A.B.M. Mambra, L.A. George, Jayaprakash A.P., H. Alex, Sreethu. K.S., D.S. Thampi. 2010. *Antimicrobial Studies on Extracts of Lantana camara Linn*. Dher Pharmacia Lettre, 2010, 2(5): 80-82.
- Rahajoe, J.S. & Windadri, F.I. 1996. *Lantana camara L. Tumbuhan Liar yang Potensial sebagai Tanaman Hias*. Prosiding Sem. Nas. Tanaman Hias.
- Rosyidah, K., S.A. Nurmuhaimina, N. Komari, & M.D. Astuti. 2010. *Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (Mangifera casturi)*. Alchemy, Vol. 1, No. 2, p. 53-103.
- Winarno, S., W.F. Ma'ruf, & E.N. Dewi. 2012. *Uji Bioaktivitas Ekstrak Gelidium sp. terhadap Bakteri Eschericia coli dan Staphylococcus aureus*. Jurnal Perikanan, Vol. 1, No. 2.