

Senyawa Triterpenoid dari Kulit Batang *Melochia umbellata* dan Bioaktivitasnya

Usman

Program Studi Magister Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Mulawarman, Samarinda
E-mail:

Abstract

The purpose of this study was to isolate secondary metabolites, determine the toxicity and antimicrobial activity of extracts and compounds from the bark of *M. umbellata*. The process of extraction, isolation and purification of secondary metabolites from the stem bark of *M. umbellata* were carried out by means of maceration, chromatography techniques, and crystallization and recrystallization. The toxicity test using the BSLT method used *Artemia salina*, then the antibacterial and antifungal tests used the agar diffusion method (Kirby-Bauer diffusion). Based on the spectra data from FTIR, UV-Vis, NMR measurements (1D and 2D NMR), the compound isolate was identified as 3 β -acetyl-olean-12-en-28-oic acid. The results of the toxicity test showed that the 3 β -acetyl-olean-12-en-28-oat acid compound, methanol extract, hexane, chloroform, and ethyl acetate, from the bark of *M. umbellata* were toxic to *A. salina*, but methanol extract was the most toxic against *A. salina* with an LC₅₀ value of 169.863 ppm. Ethyl acetate extract and 3 β -acetyl-olean-12-en-28-oat compound, at a concentration of 1000 ppm were able to inhibit the growth of *S. aureus* bacteria with a resistance zone diameter of > 14 mm. Methanol extract has inhibitory power against the growth of *C. albicans* fungi with an inhibition zone diameter of 10, 48 mm. Meanwhile, chlorophore extract and hexane showed weak inhibitory power against tested bacteria and fungi with an inhibition zone <10.00 mm.

Keywords: Triterpenoid Compounds, Bioactivity, *Melochia umbellata* Stem Bark

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi senyawa metabolit sekunder, menentukan sifat toksisitas dan aktivitas antimikroba ekstrak dan senyawa dari kulit batang *M. umbellata*. Proses ekstraksi, isolasi, dan pemurnian senyawa metabolit sekunder dari kulit batang *M. umbellata* dilakukan dengan cara maserasi, teknik kromatografi, dan kristalisasi serta rekristalisasi. Uji toksisitas dengan metode BSLT menggunakan *Artemia salina*, kemudian uji antibakteri dan antijamur dengan metode difusi agar (difusi Kirby-Bauer). Berdasarkan data spektra hasil pengukuran FTIR, UV-Vis, NMR (1D dan 2D NMR), maka isolat senyawa diidentifikasi sebagai asam 3 β -asetil-olean-12-en-28-oat. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa senyawa asam 3 β -asetil-olean-12-en-28-oat, ekstrak metanol, heksan, kloroform, dan etil asetat, dari kulit batang *M. umbellata* bersifat toksik terhadap *A. salina*, namun ekstrak metanol paling toksik terhadap *A. salina* dengan nilai LC₅₀ 169,863 ppm. Ekstrak etil asetat dan senyawa 3 β -asetil-olean-12-en-28-oat, pada konsentrasi 1000 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona

hambatan > 14 mm. Ekstrak metanol memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* dengan diameter zona hambat 10,48 mm. Sedangkan ekstrak kloroform dan heksan memperlihatkan daya hambat yang lemah terhadap bakteri dan jamur uji dengan zona hambat < 10,00 mm.

Kata Kunci: Senyawa Triterpenoid, Bioaktivitas, Kulit Batang *Melochia umbellata*

Submitted: 10 Januari 2020

Accepted: 28 Juli 2020

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i4.153>

■ Pendahuluan

Melochia umbellata merupakan salah satu jenis tumbuhan obat yang banyak ditemukan pada hutan tropis Indonesia. Tumbuhan ini digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional terutama untuk pengobati penyakit liver, hipertensi dan hepatitis [1]. Bagian jaringan kulit batang tumbuhan *M. umbellata* diketahui bersifat toksik terhadap *Artemia salina* [2]. Kemudian Raflizar *et al.* [1] dan Li, *et al.* [3] telah melaporkan bahwa ekstrak daun tumbuhan *M. umbellata* mengandung senyawa; saponin, cardenolin, bufadienol, antraknon, scopoletin, keampferol, quercetin, senyawa sianogenik, dan triterpenoid sikloartan. Laporan hasil penelitian lainnya menyatakan bahwa ekstrak metanol kulit batang tumbuhan *M. umbellata* var. *degrabrata* mengandung senyawa; alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik dan saponin [4]. Ekstrak heksan kulit batang *M. umbellata* mengandung senyawa triterpenoid dan steroid [2].

Erwin, *et al.* [5] telah berhasil mengisolasi senyawa waltherion c dan cleomiscosin pada bagian jaringan kayu batang *M. umbellata*. Senyawa waltherion c bersifat toksik terhadap *Artemia salina* dan sel murin leukimia P-388, sedangkan senyawa cleomiscosin sifat toksisitasnya terhadap *A. salina* dan sel murin leukimia P-388 termasuk dalam kategori lemah. Ekstrak heksan kayu batang *M. umbellata* mengandung senyawa β -sitosterol [6]. Ekstrak kayu akar dari *M. umbellata* telah diisolasi senyawa 5,22-stigmastadien-3 β -ol; 9,10-epoksi melochinon; dan 6,6'-dimetoksi-4,4'-dihidroksi-3',2'-furano-isoflavan dengan bioaktivitas sebagai antibakteri, antijamur, bersifat toksik terhadap *A. salina* dan sel murin leukemia P-388 [7]. Selanjutnya ekstrak heksan kulit batang *M. umbellata* menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan diameter zona hambat 12,00 mm.

Eksplorasi senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan *M. umbellata* berpotensi ditemukan senyawa baru yang memiliki aktivitas biologis yang bermanfaat bagi manusia terutama pada bagian jaringan kulit batang *M. umbellata*.

■ Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah alat-alat gelas, kromatografi vakum cair (KVC), kromatografi kolom tekan (KKT), kromatografi kolom gravitasi (KKG), kromatografi lapis tipis (KLT), *chamber*, mikropipet, autoklav, penggerus, botol vial uji, jarum ose, pinset, kertas cakram (Whatman no.42), alat evaporator BUCHI, alat pengukur titik leleh Fisher Johns, incubator, vortex, kain kasa, lampu spritus, jangka sorong, lampu ultraviolet (λ , 254 dan 360 nm), FTIR 8501 Shimadzu dan NMR JEOL JMN A 5000.

Bahan yang digunakan adalah sampel kulit batang *M. umbellata* dengan nomor spesimen: BO-1912171. Pelarut organik; n-heksana, kloroform, etil asetat, aseton, etanol dan metanol, silika gel Merk (7730, 7733 dan 7734). Serium sulfat 2 %, DMSO, benur udang *A. salina*, biakan murni bakteri gram positif *S. Aureus* ATCC 25923, biakan murni bakteri gram negatif *E. coli* ATCC 25922, dan biakan murni jamur *C. albicans*, ATCC 10231. kloramfenikol, nistatin, medium *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), kertas cakram (*paper disc*). Pereaksi uji fitokimia (alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, fenolik, dan saponin).

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel tumbuhan *M. umbellata* diidentifikasi oleh Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI Bogor. Sampel kulit batang tumbuhan dipotong-

potong kecil kemudian dikeringkan pada udara terbuka tanpa terkena sinar matahari secara langsung. Setelah kering digiling hingga diperoleh serbuk halus dengan ukuran 90 mesh. Serbuk kulit batang tumbuhan ini siap untuk dimaserasi.

Ekstraksi, Isolasi dan Pemurnian

Sampel kulit batang *M. umbellata* (5 Kg) dimaserasi dengan pelarut metanol selama 3 kali 24 jam. Setiap 1×24 jam, pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator vacum*, ekstrak yang diperoleh berwarna coklat sebanyak 390 g. Sekitar 300 g ekstrak metanol dipartisi dengan menggunakan pelarut yang dimulai dari; pelarut heksan, kloroform dan etil asetat. Filtrat dari masing-masing ekstrak diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator vacum*, ekstrak yang diperoleh adalah sebagai berikut; ekstrak heksan sebanyak 36 g, ekstrak kloroform 24 g, ekstrak etil asetat 16 g. Kemudian dilanjutkan dengan uji uji fitokimia dan uji toksisitas terhadap senyawa dan masing masing-masing ekstrak.

Pemisahan dan pemurnian ekstrak heksan (sebanyak 30 g) dilakukan dengan teknik kromatografi seperti: kromatografi kolom vakum (KKV), kromatografi kolom gravitasi (KKG) dan kromatografi kolom tekan (KKT) dan KLT preparatif dengan eluen yang sesuai. Isolat yang telah diisolasi dimurnikan dengan cara kristalisasi. Selanjutnya Isolat senyawa diuji kemurniannya dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan tiga sistem eluen dan titik leleh. Isolat senyawa tersebut berbentuk kristal jarum (sebanyak 70,0 mg). Isolat senyawa positif sebagai senyawa golongan triterpenoid karena setelah dilakukan uji fitokimia dengan menggunakan pelarut Liebermann-Burchard menghasilkan warna merah bata. Selanjutnya analisis dengan spektrofotometer UV, FTIR, NMR (H NMR, C NMR, HMBC, dan Cosy).

Uji Toksisitas

Uji toksisitas ekstrak metanol, heksana, kloroform, etil asetat dan isolat senyawa dari kulit batang *M. umbellata* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan *A. salina* melalui beberapa tahapan sebagai berikut:

Penetasan *A. Salina*

A. Salina dimasukkan pada gelas kimia (1000 ml) yang telah berisi air laut 500 ml (setengah dari volume total gelas kimia). Gelas

kimia yang berisi *A. Salina* ditutup dengan aluminium foil lalu ditempatkan di bawah sumber cahaya lampu 5 watt (28 °C). Setelah 48 jam, *A. Salina* dikumpulkan menggunakan pipet, kemudian *A. Salina* siap digunakan untuk uji toksisitas.

Persiapan Larutan Uji (Ekstrak & Isolat Senyawa)

Masing-masing ekstrak dan isolat senyawa yang akan diuji disiapkan dengan berbagai variasi konsentrasi yaitu; 125, 250, 500, dan 1000 ppm dalam air laut, apabila ekstrak atau isolat senyawa tidak larut, tambahkan DMSO (dimetil sulfoksida) 1 %, kemudian larutan diaduk sampai homogen.

Uji Toksisitas Metode Meyer

Sebanyak 0,5 ml dari masing-masing ekstrak dan isolat senyawa (variasi konsentrasi 125, 250, 500, dan 1000 ppm), diambil lalu dimasukkan ke dalam vial uji. Selanjutnya ke dalam vial uji dimasukkan *A. Salina* sebanyak 15 ekor. Untuk setiap konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan. Sebagai kontrol/pembanding ke dalam vial uji yang berisi *A. Salina* tidak ditambahkan ekstrak atau isolat senyawa. Berikutnya didiamkan selama 24 jam. Hitung jumlah *A. Salina* yang mati dan yang masih hidup. Tingkat kematian atau mortalitas dihitung dengan membandingkan antara jumlah *A. Salina* yang mati dibagi dengan jumlah *A. Salina*. Data yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} . Perhitungan LC_{50} dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linier yaitu $y = a + bx$ yang diperoleh dari grafik hubungan antara log konsentrasi dengan mortalitas probit. Suatu ekstrak dikatakan aktif atau bersifat toksik jika nilai $LC_{50} \leq 1000$ ppm.

Uji Antimikroba Ekstrak dan Isolat Senyawa

Persiapan Larutan Sampel

Persiapan larutan sampel yaitu ekstrak metanol, heksan, etil asetat dan isolat senyawa (dengan konsentrasi: 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm) untuk uji aktivitas antimikroba. Kontrol positif yang digunakan untuk uji antibakteri adalah kloramfenikol dan nistatin adalah kontrol positif untuk uji antijamur. Untuk kontrol negatif digunakan larutan DMSO.

Penyiapan Bakteri dan Jamur Uji

Media uji bakteri yaitu *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan media uji jamur adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA). Larutan Mc.farland sebagai pembanding kekeruhan suspensi bakteri sama dengan $0,5 \times 10^8$ CFU/ml. Stok kultur jamur *C. albicans* ditanam selama 3-5 hari dan stok kultur kedua bakteri (*S. aureus* dan *E. Coli*) diambil biakannya dengan jarum ose steril dan suspensikan ke dalam tabung durham yang berisi 3 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% kemudian divorteks sampai homogen.

Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak dan Isolat Senyawa

Uji aktivitas antimikroba ekstrak metanol, heksan, etil asetat dan isolat senyawa dari kulit batang *M. umbellata* menggunakan metode difusi agar (difusi Kirby-Bauer). Stok kultur bakteri uji dipipet sebanyak 100 μ l dan ditetaskan kedalam media MHA (sedangkan stok kultur jamur dibiakkan ke dalam media PDA), kemudian diratakan dengan menggunakan batang pengaduk, dibiarkan selama ± 15 menit. Kertas cakram yang telah dicelup ke dalam masing-masing laurtan ekstrak dan isolat senyawa (pada konsentrasi; 125, 250, 500, dan 1000 ppm) dikeringkan pada suhu kamar ± 10 menit. Secara aseptik kertas cakram tersebut diletakkan pada permukaan media uji dengan menggunakan pinset. Kontrol positif yang digunakan untuk uji antibakteri yaitu kloramfenikol (0,2 mg/ml), kontrol positif untuk uji antijamur digunakan nistatin (0,2 mg/ml), kontrol negatif yang digunakan yaitu larutan DMSO (dimethylsulfoxida) 1 %.

Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri dan Jamur

Pengamatan untuk bakteri dilakukan setelah inkubasi 24 jam yaitu dengan mengamati daerah zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Daya hambat yaitu dengan mengukur daerah zona bening disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong. Daya hambat diukur dengan mengurangi diameter zona hambat dengan diameter kertas cakram. Pengamatan jamur setelah masa inkubasi 3-5 hari. Diameter zona hambat diukur dengan cara yang sama [8, 9].

■ Hasil dan Pembahasan

Rendamen yang diperoleh dari hasil ekstraksi dan partisi sampel kulit batang *M. umbellata* adalah sebagai berikut; ekstrak metanol

393, 50 g, ekstrak heksan 12,10 g, ekstrak kloroform 20,30 g, ekstrak etil asetat 8,20 g, dan isolat senyawa 70,0 mg. Hasil uji toksisitas, uji antibakteri dan uji antijamur terhadap ekstrak etanol, heksana, kloroform, etil asetat dan isolat senyawa ditunjukkan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

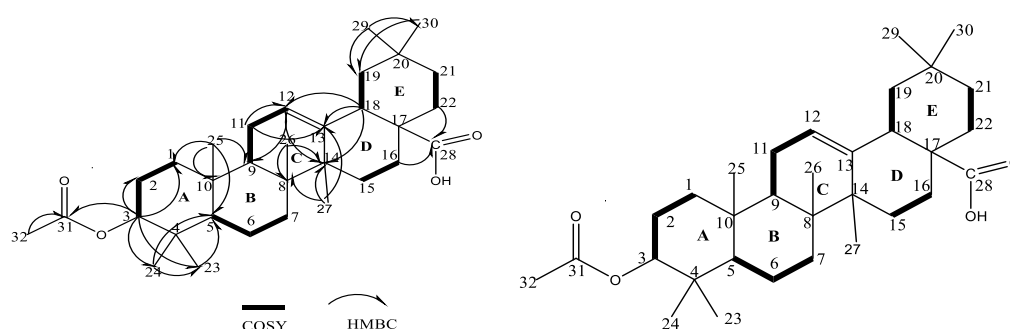
Data spektroskopi sinar UV isolat senyawa diukur pada panjang gelombang (λ) 200-400 nm dalam pelarut kloroform memberikan serapan pada panjang gelombang 276 nm yang diakibatkan terjadinya transisi elektron dari $n-\pi^*$ yang disebabkan oleh adanya ikatan rangkap C=O, dan serapan pada panjang gelombang 240 nm merupakan transisi elektron $n-\sigma^*$ dari kromofor C=O dari gugus karbonil ester. Hasil analisis spektrum IR, isolat senyawa menunjukkan serapan pada daerah bilangan gelombang 3448 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur dari gugus hidroksi (OH), diperkuat dengan vibrasi tekuk pada daerah 1099 cm^{-1} untuk gugus (OH). Kemudian tiga pita serapan yang muncul pada daerah 2958, 2918, dan 2848 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur asimetrik C-H alifatik yang diperkuat dengan adanya serapan pada 1465 dan 1377 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk dari gugus CH_2 dan gugus CH_3 . Identifikasi adanya gugus karbonil ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 1737 cm^{-1} , dan pita serapan pada daerah 1261 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk gugus (C=O) dari asetat. Pita serapan pada 1633 cm^{-1} adalah vibrasi ulur untuk gugus (C=C) yang didukung oleh adanya pita serapan pada 802 cm^{-1} , khas untuk ikatan rangkap pada posisi C-12 dan C-13 dalam suatu triterpen penta siklik.

Data spektrum $^1\text{H-NMR}$ menunjukkan adanya ikatan rangkap pada geseran kimia δ_{H} 5,27 (t, 3,9 Hz) dan metinoksi (H-C-O-) yang muncul cukup downfield pada 4,50 (t, 9,5 Hz). Hal ini Karena adanya gugus asetil ($\text{CH}_3\text{-C=O}$) dengan geseran δ_{H} 2,04 (s). Selain itu terdapat 7 gugus metil singlet (s) yang muncul pada geseran δ_{H} 0,74; 0,84; 0,85; 0,90; 0,93; 0,95 dan 1,12 (s). Hal ini juga didukung dengan data $^{13}\text{C-NMR}$ yaitu 81,10 (-C-O-), 122,74 (=C-H), 143,78 (=C=), dan 23,75; 171,25 ($\text{CH}_3\text{-CO}$). Adanya signal pada geseran kimia δ_{C} 183,9 menunjukkan adanya gugus karboksilat (-COOH).

Posisi gugus fungsi dapat dilihat dari nilai geseran kimianya dan korelasi jarak jauh (*long range coupling*) HMBC. Dimana terdapat korelasi antara δ_{H} 4,5 (t) dan gugus asetil pada δ_{C} 171,25, yang menunjukkan bahwa gugus asetil terletak

pada C-3. Disamping itu posisi ikatan rangkap terletak pada C-12, yang ditunjukkan dengan adanya korelasi antara δ_H 5,27 (t) dan δ_C 47,72 dan 41,73. Posisi beberapa gugus metil juga dapat ditentukan dengan adanya korelasi seperti pada Gambar 1. Spektrum NMR-2D COSY isolat senyawa memperlihatkan adanya korelasi proton-proton tetangga yaitu H-1 pada δ_H 1,76 ppm dengan proton H-2 δ_H pada 1,80 ppm, sinyal proton pada δ_H 1,80 ppm H-2 dengan proton pada δ_H 1,76 ppm H-1 dan sinyal proton pada δ_H 4,50 ppm H-3, sinyal proton pada δ_H 1,30 ppm H-5

dengan sinyal proton pada δ_H 1,52 ppm H-6, sinyal proton pada δ_H 1,52 ppm H-6 dengan sinyal proton pada δ_H 1,30 ppm H-5 dan sinyal proton pada δ_H 1,56 ppm H-7. Berdasarkan data spektroskopi; IR, H-NMR, C-NMR, COSY, dan HMBC, maka dapat diduga bahwa isolat senyawa adalah asam 3β -asetil-olean-12-en-28-olat. Dimana data spektroskopi C-NMR isolat senyawa memiliki kemiripan dengan data spektroskopi C-NMR senyawa asam oleanat asetat (3β -acetyl-olean-12-en-28-oic acid) yang telah dilaporkan oleh Neved, *et al.* [10].



Gambar 1. Hubungan korelasi HMBC dan COSY Senyawa 3-asetil-12-oleanen-28-olat.

Tabel 1. Hasil perhitungan LC_{50} , keempat ekstrak dan isolat senyawa kulit batang *M. umbellata*.

Ekstrak/Isolat	Konst (ppm)	Total Populasi	Jumlah Kematian	Persent Mortalitas	Log C	Probit	LC_{50} (ppm)
Senyawa	1000	15	15	100,0	3,000	8,09	219,735
	500	15	13	86,7	2,698	6,14	
	250	15	10	66,7	2,390	5,44	
	125	15	2	13,3	2,096	3,87	
Metanol	1000	15	15	100,0	3,000	8,09	169,863
	500	15	13	86,7	2,698	5,84	
	250	15	11	73,3	2,390	5,39	
	125	15	1	6,7	2,096	4,87	
Heksan	1000	15	14	93,3	3,000	6,48	325,762
	500	15	12	80,0	2,698	5,84	
	250	15	5	33,3	2,390	4,56	
	125	15	1	6,7	2,096	3,52	
Kloroform	1000	15	14	93,3	3,000	8,09	214,437
	500	15	13	86,7	2,698	6,04	
	250	15	9	60,0	2,390	5,52	
	125	15	6	40,0	2,096	3,96	
Etil Asetat	1000	15	15	100,0	3,000	8,09	190,195
	500	15	13	86,7	2,698	6,04	
	250	15	8	53,3	2,390	5,39	
	125	15	4	26,7	2,096	4,48	

Pengujian sifat toksisitas keempat ekstrak dan isolat senyawa dari kulit batang *M. umbellata* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang (*A. salina*). Hasil uji toksisitas tersebut diperoleh data berupa jumlah larva udang yang hidup dan jumlah larva udang yang mati akibat pemaparan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak atau isolat

senyawa. Hasil perhitungan, perbandingan antara larva udang yang mati terhadap larva udang seluruhnya diperoleh persen kematian (persen mortalitas), selanjutnya data persen kematian dikonversi untuk mendapatkan nilai probit. Nilai probit ini, kemudian diplotkan terhadap log konsentrasi dalam sebuah grafik untuk menghitung nilai LC_{50} melalui persamaan regresi

linier $Y = aX + B$. Nilai persen mortalitas, nilai probit, dan nilai LC_{50} pada berbagai konsentrasi dari keempat ekstrak (metanol, heksana, kloroform dan etilasetat) dan isolat senyawa dari kulit batang *M. umbellata*, dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan uji toksisitas dengan metode BSLT menggunakan *A. Salina* (larva udang) seperti yang disajikan pada Tabel 1, diketahui bahwa ekstrak metanol mempunyai nilai LC_{50} paling kecil dibandingkan ketiga ekstrak yang lain dan isolat senyawa dari kulit batang *M. umbellata*. Hal ini berarti bahwa ekstrak metanol bersifat paling toksik terhadap *A. salina* dengan nilai LC_{50} 169,863 ppm. Sehingga ekstrak metanol berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai antitumor/anti kanker [11]. Ekstrak heksana memiliki nilai LC_{50} paling tinggi, yang berarti

ekstrak heksana bersifat kurang toksik terhadap larva udang dengan nilai LC_{50} 325,762 ppm. Tingkat toksisitas suatu ekstrak ditentukan dengan melihat nilai LC_{50} suatu ekstrak atau senyawa, jika nilai LC_{50} suatu ekstrak lebih kecil dari 1000 ppm maka ekstrak tersebut dikatakan bersifat toksik dan jika nilai LC_{50} suatu ekstrak lebih besar dari 1000 ppm maka ekstrak tersebut dikatakan bersifat kurang toksik. Namun ekstrak heksan juga mempunyai efek toksik yang cukup baik karena nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

Hasil uji aktivitas antimikroba dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram terhadap keempat ekstrak yaitu ekstrak metanol, heksan, kloroform dan etil asetat, serta isolat senyawa dari kulit batang *M. umbellata* var. *degrabrata* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak heksan dan isolat senyawa dari kulit batang *M. umbellata*.

No	Ekstrak / Isolat	Konsentrasi (ppm)	Diameter Zona Hambatan (mm)		
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
1	Metanol	1000	12,67	11,50	10,48
		500	10,42	9,22	9,15
		250	8,15	7,86	7,45
		125	t.m	t.m	t.m
2	Heksan	1000	9,0	9,15	8,86
		500	9,0	7,26	7,15
		250	t.m	t.m	t.m
		125	t.m	t.m	t.m
3	Kloroform	1000	9,11	9,36	8,18
		500	8,68	7,45	7,10
		250	t.m	t.m	t.m
		125	t.m	t.m	t.m
4	Etil asetat	1000	15,37	12,50	9,50
		500	11,25	9,27	8,50
		250	8,56	7,46	7,25
		125	7,85	t.m	t.m
5	Isolat senyawa	1000	14,40	10,58	t.m
		500	12,59	8,36	t.m
		250	8,86	7,15	t.m
		125	t.m	t.m	t.m
6	KP (Kloramfenikol)	1 %	16,15	15,90	-
	KP (Nistatin)	1 %	-	-	14,61
7	KN	1 %	t.m	t.m	t.m

Keterangan :

KP (Kontrol Positif bakteri) = Kloramfenikol

t.m = tidak menghambat

KN (Kontrol Negatif) = DMSO 1 %.

Hasil uji aktivitas antimikroba sebagaimana yang disajikan pada Tabel 2, menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1000 ppm, ekstrak etil asetat dari kulit batang *M. umbellata* memperlihatkan daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter zona hambat 15,37 mm dan 12,50 mm, serta daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* yaitu dengan diameter zona hambat 9,50 mm. Pada konsentrasi 125 ppm,

ekstrak etil asetat hanya memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat 7,0 mm. Isolat senyawa pada konsentrasi 1000 ppm, memperlihatkan daya hambat paling tinggi terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter zona hambat 14,40 mm dan 10,58 mm, namun isolat senyawa tidak memperlihatkan daya hambat terhadap jamur *C. Albicans*. Pada konsentrasi 125

ppm, isolat senyawa tidak memiliki aktivitas sebagai antimikroba.

Pada konsentrasi 1000 ppm, Ekstrak metanol memiliki daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter zona hambat 12,67 mm dan 11,50 mm, serta jamur *C. albicans* dengan zona hambat 10,48 mm. Pada konsentrasi 125 ppm ekstrak metanol tidak memperlihatkan daya terhadap bakteri dan jamur uji. Selanjutnya ekstrak heksan dan kloroform pada konsentrasi 1000 ppm, memberikan daya hambat terhadap bakteri dan jamur uji dengan zona hambat < 10,0 mm.

Kriteria daya hambat antimikroba sebagai berikut: diameter zona hambat 6 mm dikategorikan tidak menghambat, zona hambat ≤ 10 mm dikategorikan sedang, zona hambat ≤ 20 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat > 20 mm dikategorikan sangat kuat [12]. Berdasarkan Tabel 2, maka aktivitas antimikroba ekstrak metanol kulit batang *M. umbellata*, terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, serta jamur *C. albicans* pada konsentrasi 1000 ppm tergolong kategori kuat dengan zona hambat > 10 mm. Aktivitas antimikroba, ekstrak etil asetat, dan isolat senyawa terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi 1000 ppm termasuk kategori kuat dengan zona hambat > 10 mm. Daya hambat ekstrak etil asetat terhadap jamur *C. albicans* pada konsentrasi yang sama, termasuk kategori sedang, dengan zona hambat < 10 mm, namun isolat senyawa tidak memperlihatkan daya hambat terhadap jamur uji. Sedangkan ekstrak heksan dan kloroform memiliki aktivitas antimikroba dengan kriteria sedang dengan zona hambat < 10 mm.

Suatu senyawa dikatakan bersifat sebagai antimikroba jika senyawa tersebut memberikan diameter zona hambat rata-rata > 14 mm [13]. Berdasarkan hasil uji aktivitas antimikroba maka ekstrak etil asetat dan senyawa 3-asetil-12-oleanen-28-oat dari kulit batang tumbuhan *M. umbellata* pada konsentrasi 1000 ppm, berpotensi sebagai antimikroba karena ekstrak etil asetat dan senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat > 14 ppm. Sedangkan ekstrak metanol pada konsentrasi 1000 ppm, menunjukkan daya hambat yang paling tinggi pada jamur *C. Albicans* dengan zona hambat < 14 mm. Hasil penelitian ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulur *et al*, [14] menunjukkan bahwa ekstrak heksana dari daun *M. umbellata* memiliki daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri *S.*

aureus dengan diameter zona hambat 11,45 mm pada konsentrasi 2.500 ppm.

Setiap jenis bakteri dan jamur memiliki sensitifitas yang berbeda terhadap zat antimikroba, karena masing-masing bakteri dan jamur memiliki struktur dinding sel yang berbeda sehingga efeknya terhadap bakteri dan jamur berbeda. Bakteri Gram positif seperti *Stapylococcus aureus* hanya memiliki satu lapisan yang mengandung peptidoglikan, lapisan tipis asam teikoat dan teikuronat sedangkan bakteri Gram negatif seperti *E. coli* memiliki lapisan di luar dinding sel yang mengandung 5-10% peptidoglikan, selain itu juga memiliki protein, lipopolisakarida dan lipoprotein. Bakteri Gram negatif mempunyai dua lapisan lipid (*bilayer lipid*) yang disebut lapisan lipopolisakarida (LPS). sehingga zat antimikroba lebih mudah menembus ke dalam dinding sel bakteri *Stapylococcus aureus* dibandingkan bakteri Gram negatif seperti *E. coli* [15]. Sedangkan jamur *C. albicans* mempunyai membran mempunyai membran lipid dan protein. Lipida membentuk sawar yang dapat mencegah bahan yang larut air dari suatu ruang sel ke ruang sel lain. Ergosterol merupakan lapisan sterol jamur yang berfungsi membantu menentukan permeabilitas lapisan ganda serta mengatur sebagian besar sifat cair dan membran, sehingga zat antimikroba lebih sulit menembus dinding sel jamur [16].

■ Kesimpulan

1. Senyawa turunan terterpenoid yaitu 3-asetil-12-oleanen-28-oat diisolasi dari ekstrak heksan kulit batang *M. umbellata*.
2. Ekstrak metanol, etil asetat, kloroform, heksan, dan senyawa 3-asetil-12-oleanen-28-oat, dari kulit batang *M. umbellata*, bersifat toksik terhadap *A. salina* dengan nilai LC₅₀ berturut-turut; 169,863; 190,195; 214,437, 325,762; dan 219,735 ppm
3. Ekstrak etil asetat dan senyawa 3-asetil-12-oleanen-28-oat, memiliki daya hambat tertinggi terhadap bakteri *S. aureus* dengan zona hambat masing-masing 15,37 mm dan 14,40 mm.
4. Ekstrak metanol memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. Albicans* dengan dengan diameter zona hambat 11,50 mm.

■ Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan fasilitas untuk melakukan penelitian ini serta Kepala Balai dan Staf Herbarium Bogoriense, Balai Penelitian dan Pengembangan Botani, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi (LIPI) Bogor, yang telah mengidentifikasi spesimen tumbuhan ini.

■ Daftar Pustaka

- [1] Raflizar, Adimunca, dan Tuminah S. 2006. Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospital* Linn) Sebagai Obat Radang Hati Akut. *Cermin Dunia Kedokteran*. 50, 10-14.
- [2] Usman, Muh Amir, Nunuk H.S, Ahyar Achmad, Maulidiyah. 2018. Isolation of Secondary Metabolite Compounds and Antibacterial Activities Tests from Heksan Extract of Stem Bark *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata*. *Asian Journal Pharm Clin Res (AJPCR)*, Vol 11, Issue 8, 2018, 457-462
- [3] Li, H., Chen, G. 2009. Genetic Variation Within the Endangered Mangrove Species *Sonneratia paracaseolaris* (*Sonneratiaceae*) in China Detected by Inter-Simple Sequence Repeats Analysis. *J. Biochemical Systematics and Ecology*. No. 37. P: 260-265, April 2009
- [4] Usman, Nunuk H.S, Hanapi Usman and Ahyar Achmad. 2014. Toxicity and Antimicrobial Activity from Extract and Oleanan Derivate Compounds of The Bark *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata*
- [5] Erwin, Alfian N, Soekamto N.H, dan Altena I.V, Syah Y.M. 2014. Waltherione C and Cleomiscosin from *Melochia umbellata* var. *degrabrata* K. (*Malvaceae*). *Biosynthetic and Chemotaxonomic Significance*. 55; 358-361.
- [6] Erwin, Alfian Noor, Nunuk Hariani Soekamto, and Tjodi Harlim. 2010. 6,6'-Dimethoxy-4,4'-Dihydroxy-3',2'-Furano-Isosflavane, A New Compound From *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K. *Indo. J. Chem.*, 2010, 10 (2), 222 – 225.
- [7] Ridhay A, Noor A, Soekamto N. H, and Harlim T. 2012. A Stigmasterol Glycoside from the Root Wood of *Melochia umbellata* (Houtt) stapf var. *degrabrata* K., *Indonesian Journal of Chemistry*, 12, 1, 100-103.
- [8] Jawetz Ernst, 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 20, EGC, Jakarta 1997, P:153 – 322.
- [9] Gowri S.S, & Vasantha K. 2009. Solvent Based Effectiveness of Antibacterial and Phytochemical Derivatized from The Seeds of *Harpullia arborea* (Blanco) Radlk (Sapindaceae). *PG & Research of Departement Botany: Kungonado Art and Science College*, 13(4), 99-101.
- [10] Naved T., Ansari S.H., Mukhtar H.M., and Ali M., 2005. New Triterpenic Esters of Oleanene-Series from The Flowers of *Calendula officinalis* Linn. *Indian Journal of Chemistry*. Vol 44B, May 2005, pp 1088 – 1091.
- [11] Singh, K. Shiv., Nai-ming Chen., Hessmann, E., And Ellenrieder, V. 2015. Antithetical NFATc1–Sox2 and p53–miR200 signaling networks govern pancreatic cancer cell plasticity. *The EMBO Journal* 34(4).
- [12] Davis W.W., Stut T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*. 22(4): 659-665.
- [13] Wattimena, J.R. 1991. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. Hal: 36
- [14] Wulur S, Firdaus, Natsir H, and Soekamto N.H. 2015. Study of Compounds from Extract of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf. *Degrabrata* K (Paliasa) Leaves That Has Potential As Antibacterial. *Journal Indonesia Chemical Acta*. 2015. Jun. 8 (1). ISSN 2085-014X
- [15] Madigam, M.T., J.M. Martinko, Stahl and D.P. Clark. 2012. *Biology of Microorganism* 13th ed. San Fransisco: Pearson. P. 34
- [16] Guyton, A.C., Hall, J.E. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* 12th Edition, Editors: M Widjajakusumah Antonia Tanzil, Paperback ISBN: 9789814371186, Imprint: Elsevier (Singapore) Pte Ltd, 2014.