



## Senyawa Antibakteri Dari Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* Linn.)

Morina Adfa

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Indonesia

Diterima 22 Nopember 2007, Disetujui 24 Desember 2007

**Abstrak** - Telah diisolasi senyawa aktif antibakteri dari daun pacar air (*Impatiens balsamina* Linn.) berupa kristal berwarna kuning sebanyak 7 mg dengan titik leleh 182-183° C. Berdasarkan data titik leleh, spektrum UV dan spektrum IR diduga senyawa hasil isolasi adalah 1,4-naftoquinon yang tersubstitusi gugus metoksi. Senyawa murni hasil isolasi juga memperlihatkan aktivitas antibakteri 0,5-0,6 kali tetrasiklin terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*.

**Kata kunci:** *Impatiens balsamina* Linn., 1,4-naftoquinon, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*

### 1. Pendahuluan

Tumbuhan merupakan sumber kehidupan bagi manusia, baik sebagai sumber makanan, bahan bakar, bahan bangunan, serat kertas, pakaian dan obat-obatan. Sebagai bahan obat tumbuhan telah lama dimanfaatkan oleh manusia, sebagian masih berdasarkan pada pengalaman turun temurun yang dikenal sebagai obat tradisional dan sebagian lagi telah dikembangkan melalui penelitian-penelitian ilmiah.

Dalam pengobatan secara tradisional, sebagian besar ramuan berasal dari tumbuhan, baik berupa akar, kulit batang, kayu, daun, bunga atau bijinya. Ada pula yang berasal dari organ binatang dan bahan-bahan mineral. Agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggung jawabkan maka diperlukan penelitian-penelitian ilmiah seperti penelitian-penelitian dibidang farmakologi, toksikologi, identifikasi dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan. Dibidang farmakologi penelitian untuk mencari antibiotik dari tumbuhan tingkat tinggi sedang digalakkan karena umumnya antibiotik yang ada sekarang ini adalah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan ada pula yang semi sintetik, jika pemakaian antibiotik berlebihan menyebabkan resistensi mikroba. Maka dari itu diperlukan penemuan senyawa antibiotik baru yang lebih aman dan mempunyai spektrum yang lebih luas [5].

Salah satu penggunaan senyawa antibakteri dalam dunia kesehatan adalah sebagai bahan obat-obatan untuk menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen. Akan tetapi penggunaan obat secara terus menerus yang tidak sesuai dengan ketentuan dapat menyebabkan munculnya sifat resisten pada bakteri patogen. Munculnya sifat resisten ini disebabkan karena bakteri patogen yang secara terus-menerus dikenai senyawa antibakteri dengan dosis yang kurang memadai tidak mati, tetapi beradaptasi dengan lingkungannya. Proses adaptasi yang terus-menerus menyebabkan terjadinya perubahan genetik yang mengarah pada terbentuknya gen yang menyebabkan bakteri patogen resisten terhadap obat yang digunakan, sehingga obat yang sama tidak dapat dipakai lagi. Dengan demikian, maka pencarian antibakteri baru atau memodifikasi yang sudah ada harus terus dilakukan, sehingga didapat senyawa antibakteri yang aktivitasnya lebih efektif, yang akhirnya dapat dibuat sebagai bahan aktif obat dan dapat menyembuhkan penyakit yang disebabkan bakteri patogen yang telah resisten [5].

Salah satu tumbuhan yang selama ini hanya dikenal sebagai tanaman hias adalah pacar air (*Impatiens balsamina* L.) termasuk famili Balsaminaceae. Masyarakat Bengkulu telah memanfaatkan tanaman pacar air sebagai obat luka potong, bengkak-bengkak,

koreng, obat panas dalam dan susah kencing bagi anak kecil, disamping itu tanaman pacar air juga digunakan untuk memerah kuku [2]. Disisi lain penelitian yang telah dilakukan [6] terhadap ekstrak etanol bunga putih pacar air memberikan efek antihistamin, anti anafilaktik, anti bodi, anti puritik dan menurunkan tekanan darah. Dalam pengobatan Cina, pacar air digunakan untuk mengobati penyakit encok, luka memar dan beri-beri [7] serta pacar air di India digunakan juga sebagai racun ikan [10]. Dari penelitian terdahulu telah dilaporkan bahwa [8] telah berhasil mengisolasi Kaemferol 3-O-glukosida dan Kuersetin dari bunga putih pacar air [6] berhasil mengisolasi Rutin dari bunga pacar air, tahun 2000, Adfa telah berhasil mengisolasi Skopoletin dari daun pacar air. Namun sejauh ini belum ada laporan tentang aktivitas biologis dari ekstrak daun tanaman pacar air. Untuk itu perlu penelitian lebih lanjut tentang aktivitas biologis, dalam hal ini sifat antimikroba dan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut, dimana pada uji pendahuluan ekstrak metanol dari daun pacar air menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Dari uji pendahuluan metabolit sekundernya daun pacar air mengandung kumarin, flavonoid, kuinon, saponin dan steroid, diduga salah satu dari senyawa tersebutlah yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun pacar air.

## 2. Metode Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium kimia organik, alat destilasi, rotary evaporator, kolom kromatografi, spektrofotometer UV, spektrofotometer IR, Fisher John Melting Point Apparatus, lampu UV, kapiler, vial, botol camber.

Bahan yang digunakan pada pengerjaan isolasi adalah sampel kering daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.), etanol, n-heksana, kloroform, metanol, etil asetat, natrium hidroksida, uap iodium, plat KLT silika gel 60 GF 254, silika gel 60 (230-400 mesh), kapas, kertas saring, aquades.

Alat yang digunakan untuk pengerjaan aktivitas antimikroba berupa pipet mikro, cawan petri, jarum

ose, kertas cakram (Whatman® No. 3), autoclave, incubator, shaker, lemari aseptis dan hotplate.

Bahan yang digunakan untuk pengerjaan antimikroba adalah NaCl fisiologis, Nutrient Agar (NA) Merck®, mikroba uji *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus cereus*.

Sampel berupa daun tanaman Pacar air diambil di Kelurahan Rawa Makmur, Kota Bengkulu kemudian determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Padang.

### a. Ekstraksi dan Isolasi

Daun Pacar Air yang telah dikumpulkan dirajang halus kemudian dikering anginkan. Sebanyak 600 gram sampel kering disokletasi dengan n-heksana (5L), setelah pelarut tidak berwarna lagi maka proses sokletasi dilanjutkan dengan pelarut etil asetat dan metanol berturut-turut. Ekstrak yang didapat diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator, maka akan didapat ekstrak pekat n-heksana, ekstrak pekat etil asetat dan metanol.

Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antibakteri dengan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya daerah bening disekeliling cakram uji maka fraksi etil asetat dilanjutkan dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel sebagai fasa diam dan eluent campuran n-heksana, n-heksana-kloroform, kloroform-etil asetat, etil asetat-metanol, metanol dengan sistem *step gradient polarity*. Fraksi yang keluar dari kolom ditampung dengan vial 15 mL dan dimonitor dengan kromatografi lapisan tipis menggunakan eluent etil asetat-kloroform (7:3) dan penampak noda lampu UV, NaOH 10% dan uap I<sub>2</sub>. Fraksi yang mempunyai R<sub>f</sub> yang sama di gabung, kemudian pelarutnya diuapkan, selanjutnya direkristalisasi.

### b. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Senyawa murni hasil isolasi ditentukan dahulu sifat fisiknya meliputi uji titik leleh dan kromatografi lapis tipis dengan berbagai macam eluent, diuji aktivitas antibakteri dengan metoda difusi agar dan sebagai

pembandingan digunakan tetrasiklin. Setelah itu baru di rekam spektrum UV dan spektrum IR.

#### c. Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba

Sebanyak 0,1 mL suspensi mikroba uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 12 mL media NA, lalu dihomogenkan. Setelah itu dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah media memadat, diletakkan kertas cakram steril dan ditetesi dengan 10 µL larutan uji konsentrasi 1% b/v menggunakan pipet mikro. Dibiarkan beberapa lama untuk pradifusi, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C untuk bakteri (dalam inkubator). Diamati adanya pertumbuhan mikroba uji dan diukur diameter hambatan. Sebagai kontrol negatif digunakan kertas cakram yang telah ditetesi dengan 10 µL metanol dan sebagai kontrol positif digunakan tetrasiklin dengan konsentrasi yang sama dengan sampel [3].

### 4. Hasil Dan Pembahasan

#### a. Ekstraksi Daun Pacar Air

Identifikasi tumbuhan yang telah dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Padang (ANDA) menunjukkan nama species dari tumbuhan ini adalah *Impatiens balsamina* Linn. Hasil pemeriksaan kandungan metabolit sekunder dari daunnya memperlihatkan senyawa kumarin, kuinon, flavonoid, steroid, triterpenoid, fenolik dan saponin.

Hasil ekstraksi 600 gram sampel kering daun *Impatiens balsamina* Linn. diperoleh ekstrak kental fraksi n-heksana 13,4 gram, ekstrak kental fraksi etil asetat 8,1 gram dan ekstrak kental fraksi metanol 3,8 gram. Uji pendahuluan kandungan metabolit sekunder terhadap fraksi etil asetat dengan KLT mempergunakan penampak noda NaOH 10% memperlihatkan satu noda berwarna merah bata, berarti fraksi etil asetat ini positif mengandung senyawa kuinon. Plat KLT setelah disinari dengan lampu UV 365 nm memberikan warna fluoresensi kuning hijau, biru, kuning hijau dan kuning, dari data ini diperoleh informasi bahwa selain senyawa kuinon fraksi etil asetat juga mengandung senyawa kumarin dan flavonoid. Sedangkan fraksi n-heksana

memperlihatkan uji yang positif terhadap senyawa steroid dan triterpenoid, fraksi metanol positif terhadap uji kumarin dan flavonoid.

#### b. Uji Aktifitas Antibakteri Fraksi n-Heksana, Etil Asetat Dan Fraksi Metanol

Pemeriksaan aktivitas antibakteri terhadap ekstrak kental fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol pada konsentrasi sampel 1% b/v dalam pelarut metanol menunjukkan bahwa fraksi n-heksana dan metanol tidak aktif terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* sedangkan fraksi etil asetat aktif dengan bakteri uji yang memberikan zona hambat dengan Diameter Daya Hambat (DDH) sebesar 7 mm dengan *Staphylococcus aureus* dan 5 mm dengan *Bacillus cereus*, maka pengerjaan lebih lanjut terhadap fraksi etil asetat.

#### c. Isolasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri Dari Fraksi Etil Asetat Dengan Kromatografi Kolom

Setelah diketahui bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri dan fraksi etil asetat juga positif mengandung senyawa kuinon, kumarin dan flavonoid, maka dilakukan isolasi terhadap senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas tersebut. Selanjutnya ekstrak etil asetat dipisahkan dengan kromatografi kolom menggunakan adsorben silika gel dan eluent n-heksan, n-heksan : kloroform, kloroform : etil asetat, etil asetat : metanol dilanjutkan dengan metanol maka didapat 5 (lima) fraksi, fraksi A(vial 1-26), fraksi B(vial 27-35), fraksi C(vial 36-42), fraksi D(vial 43-56) dan fraksi E(vial 57-70). Fraksi B direkristalisasi dengan metanol didapat kristal kuning seberat 7 mg (senyawa x). Setelah dilakukan kromatografi lapisan tipis dengan berbagai macam eluent, penampak noda lampu ultra violet dan di semprot dengan NaOH 10% didapat satu noda berwarna merah bata, diganti penampak nodanya dengan I<sub>2</sub> tetap satu noda berarti senyawa yang didapat sudah murni maka diukur titik lelehnya dengan alat Fisher John Melting Point Apparatus didapat 182-183°C.

#### d. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Spektrum ultraviolet hasil isolasi memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang  $\lambda_{\text{Maks}}$  MeOH nm: 242,3 ; 247,4; 275,6; 330,8. Spektrum infra merah memperlihatkan serapan pada  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$  KBr: 1680(C=O), 1645(C=O), 1605 (C=C Ar), 1450(C=C Ar), 1240(C-O), 1070-1030 (C-O-C), 700-900(aromatis). Uji KLT menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi ini telah murni karena mempunyai titik leleh yang relatif tajam (hanya berjarak 1°C) dan memberikan satu noda dengan berbagai eluent dan berbagai penampak noda. Spot berwarna merah bata diberikan ketika plat disemprot dengan NaOH 10%, yang berarti senyawa murni hasil isolasi ini adalah metabolit sekunder golongan Quinonoid, sedangkan uji pendahuluan metabolit sekunder yang lain memperlihatkan uji negatif.

Spektrum ultraviolet dalam pelarut metanol menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 242,3 ; 247,4; 275,6; 330,8 nm. Serapan ini menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi mengandung inti benzen , karena serapan benzen terjadi pada 255, 200 dan 185 nm [11]. Bila dibandingkan dengan 1,4- naftoquinon tanpa substituent mempunyai serapan pada 240-290 nm tajam, karakteristik untuk benzenoid dan kuinonoid didukung 330-335 medium dan 2-metoksi, 1,4-naftoquinon mempunyai serapan  $\lambda_{\text{maks}}$   $\text{CHCl}_3$  242, 248, 277 dan 333 nm. Maka diduga senyawa hasil isolasi ini adalah 1,4-naftoquinon tersubstitusi [12].

Interpretasi spektrum infra merah didapat puncak-puncak yang penjabarannya sebagai berikut:

Struktur terpenting dari naftaquinon adalah cincin benzen dan cincin quinonoid yang terdiri dari 2 buah C=O. Satu buah C=O ditunjukkan oleh serapan pada 1680  $\text{cm}^{-1}$  dan satu lagi 1645  $\text{cm}^{-1}$  (Silverstein 1690 – 1655  $\text{cm}^{-1}$ ). Serapan pada 1605  $\text{cm}^{-1}$  merupakan regangan C=C aromatis yg didukung oleh 1450  $\text{cm}^{-1}$  tajam dan serapan 700-900  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan pada daerah 1240  $\text{cm}^{-1}$  merupakan serapan C-O yang diduga berupa substituent O-Me, didukung serapan 1070-1030  $\text{cm}^{-1}$  (C-O-C). Serapan pada daerah 2980  $\text{cm}^{-1}$  merupakan C-H alifatik dan 3060  $\text{cm}^{-1}$  serapan CH aromatis.

Jika dibandingkan dengan 2-metoksi, 1,4-naftoquinon yang diisolasi oleh Panichayupakaranant 1995 dari akar Pacar air, senyawa hasil isolasi memberikan serapan yang identik dengan puncak serapan pada  $\nu$  KBr  $\text{cm}^{-1}$ : 1680 C=O, 1645 C=O, 1605 C=C Ar, 1240 C-O. Data Thomson, 1971 juga mendukung dimana 2-metoksi, 1,4 naftoquinon memberikan puncak serapan karbonil pada  $\nu$  KBr 1678, 1645  $\text{cm}^{-1}$  Jadi diduga senyawa hasil isolasi adalah 1,4 naftoquinon dengan substituent metoksi, akan tetapi untuk menentukan struktur molekulnya perlu data-data NMR, MS, COSY.

#### e. Aktivitas Antimikroba Senyawa Murni Hasil Isolasi

Pengujian aktivitas antimikroba senyawa hasil isolasi (senyawa x) dengan metoda difusi agar pada konsentasi sampel 1% bv terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*, menunjukkan bahwa senyawa x memiliki aktivitas yang tinggi menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*. Sebagai pembanding positif digunakan antibiotik tetrasiklin (ekspayer Januari 2010). Disini terlihat bahwa pada konsentasi yang sama antara senyawa x dengan tetrasiklin, aktivitas senyawa x adalah 0,5 – 0,6 kali tetrasiklin (terlihat pada tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi-Fraksi Dan Senyawa Murni Hasil Isolasi (Senyawa x).

Sampel	Diameter daya hambat (DDH) bakteri uji (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Senyawa x	10	12
Antibiotik Tetrasiklin (kontrol positif)	22	18
Pelarut Metanol (kontrol negatif)	0	0
Aquadest Steril (kontrol negatif)	0	0
Fraksi Etil asetat	7	5
Fraksi n-Heksana	0	0
Fraksi Metanol	0	0

## 5. Kesimpulan

Isolasi komponen kimia dari daun *Impatiens balsamina* Linn. dengantuntunan bioassay antimikroba didapat kristal berwarna kuning seberat 7 mg dengan titik leleh 182-183°C.

Uji antimikroba senyawa murni hasil isolasi memperlihatkan keaktifan biologis terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* memperlihatkan aktivitas antibakteri 0,5–0,6 kali tetrasiklin.

Berdasarkan data titik leleh, data spektrum UV dan IR, maka diduga senyawa hasil isolasi ini adalah golongan 1,4 naftaquinon yang tersubstitusi gugus metoksi.

#### Daftar Pustaka

- [1] Adfa, M., 2000, Isolasi Kumarin dari Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.), Tesis, Program Pasca sarjana, Universitas Andalas, Padang.
- [2] Adfa, M., dan Kasrina, 2001, *Pacar air (Impatiens spp.) sebagai Tanaman Obat Masyarakat Bengkulu: Survey Etnobotani dan Keanekaragaman hayati*, Laporan Penelitian, Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu.
- [3] Cappurino, J.G., N.Sherman, 1987, *Microbiology: A Laboratory Manual*, The Benyamin Publishing Company, Inc., 250-252.
- [4] Dey, P.M and J.B. Harborne, 1991. *Method in Plant Biochemistry*, Academic Press, London, 8-10.
- [5] Dharma, A., 2001, *Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder*, Makalah Workshop Kimia Bahan Alam Hayati, Proyek Ditjen Dikti, Unand, Padang.
- [6] Fukomoto, H., K. Isoi, K. Ishiguro, M. Semma, T. Murashima, 1994, *J. Phytochemistry*, **37**(5), 1486-1488.
- [7] Fukomoto, H., K. Isoi, K. Ishiguro, M. Semma, M. Yamaki, 1996, *Phytother-res*, **10**(3), 202-206.
- [8] Ishiguro, K., H. Oku, 1997, *Phytother-res*, **11** (5), 343-347.
- [9] Panichayupakaranant, Hiroshi, N., Wanchai, D., Ushio, S., 1995, *J. Phytochemistry*, **40**(4), 1141-1143.
- [10] Shoji, N., A. Umeyama, K. Yoshikawa, N. Saitou, Y. Kan and S. Arihara, 1994, *J. Tetrahedron*, **50** (17), 4973-4986.
- [11] Silverstein, R.M., G.C. Bassler, T.C. Morrill, 1991, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5<sup>th</sup> edition, John Wiley & Sons, Inc.
- [12] Thomson, R.H, 1971, *Naturally Occuring Quinones*, academic Pres, London.