

Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir* Roxb)

Phenolic content and antibacterial properties of various extracts of gambir (*Uncaria gambir* Roxb)

Rindit Pambayun ^{1*)}, Murdijati Gardjito ²⁾, Slamet Sudarmadji ²⁾ dan Kapti Rahayu Kuswanto ²⁾

¹⁾ Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Palembang

²⁾ Fakultas Teknologi Pertanian UGM Yogyakarta

Abstrak

Ekstraksi produk gambir dengan berbagai jenis pelarut menghasilkan jumlah yang bervariasi untuk bahan terekstrak, kandungan fenol, dan sifat antibakterinya. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi dan Soxhlet menggunakan pelarut kloroform, etil asetat, etanol, dan air serta campurannya. Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa pada metoda maserasi dan Soxhlet, bahan terekstrak paling tinggi diperoleh pada campuran etanol air 1:1, masing-masing sebesar 84,77 % dan 87,69%. Metoda soxhlet memberikan hasil yang lebih tinggi dari pada metoda maserasi. Kandungan fenol tertinggi ditemukan pada bahan terekstrak dari ekstraksi dengan pelarut etil asetat baik pada metoda maserasi maupun Soxhlet, yakni 88,30 dan 90,85 %. Sifat antibakteri pada ekstrak produk gambir terhadap bakteri uji Gram-positif *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat lebih kuat dari pada ekstrak yang lain. Sebaliknya, ekstrak produk gambir tidak memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri uji Gram-negatif. Dari hasil bahan terekstrak tertinggi, ekstraksi dilanjutkan dengan pelarut campuran etanol-air dengan berbagai perbandingan dan pada suhu 4 °C, 30 °C, dan 60 °C. Hasilnya menunjukkan bahwa perbandingan etanol air (1:2) menghasilkan bahan terekstrak tertinggi tetapi kandungan fenolat total dan sifat antibakterinya lebih rendah dari pada kandungan fenolat dan sifat antibakteri bahan terekstrak menggunakan etil asetat.

Kata kunci: antibakteri, polifenol, ekstrak *Uncaria gambir* Roxb

Abstract

Extraction of *gambir* product with various solvents gave vary in amount of yields, phenolic contents, and its antibacterial properties. Extraction was performed by maseration and Soxhlet methods with some solvents; chloroform, ethyl acetate, ethanol, water, and their combination. The results showed that the highest yield of extract obtained from the solvent combination of ethanol and water (1:1 v/v) both at the maseration and Soxhlet metods, i.e. 84.77 and 87.69 %, respectively. Soxhlet method gave the yield of extract higher than that of maseration method. The highest phenolic content was found at the extracts using ethyl acetate both in maseration and soxlet methods, i.e. 88,30 and 90,85 %, respectively. Antibacterial properties on the Gram-positive bacteria such as *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis*, indicated that the extracts extracted by using ethyl acetate gave highest inhibitory properties. On the other hand, the extracts did not inhibit Gram-negative bacteria.

Extraction was continued by using solvent combination of ethanol and water at the various proportion and at the three levels of temperature, 4, 30, and 60 °C. The results showed that solvent combination of ethanol and water (1:2), gave the highest yield of extracts but lower in phenolic contents and antibacterial properties.

Key words: antibacterial, phenolic content, extract of *Uncaria gambir* Roxb

Pendahuluan

Gambir merupakan produk dari tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb) mengandung senyawa fungsional yang termasuk dalam golongan senyawa polifenol. Senyawa polifenol dalam gambir terutama adalah katekin (Heyne, 1987). Gambir komersial diperoleh dengan pengolahan daun gambir dengan metoda perebusan, pengepresan, dan pengeringan padatan. Dalam perdagangan, salah satu komponen mutu gambir ditentukan berdasarkan pada kandungan katekinnya. Untuk gambir Mutu I, II, dan III kandungan katekin minimal secara berurut-urut adalah 40 persen, 30 persen, dan 20 persen (Risfaheri *et al.*, 1993).

Polifenol alami merupakan metabolit sekunder tanaman tertentu, termasuk dalam atau menyusun golongan tanin. Tanin adalah senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam, tanin terkondensasi (*condensed tannin*) dan tanin yang dapat dihidrolisis (*hydrolyzable tannin*) (Naczki *et al.*, 1994 dan Hagerman *et al.*, 2002).

Polifenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tersebut yang dimiliki berbeda jumlah dan posisinya. Dengan demikian, ekstraksi menggunakan berbagai pelarut akan menghasilkan komponen polifenol yang berbeda pula. Sifat antibakteri yang dimiliki oleh setiap senyawa yang diperoleh dari ekstraksi tersebut juga berbeda.

Ekstraksi suatu bahan pada prinsipnya dipengaruhi oleh suhu. Makin tinggi suhu yang digunakan, makin tinggi ekstrak yang diperoleh. Namun demikian, bahan hasil ekstraksi dengan berbagai tingkat suhu belum tentu memberikan pengaruh yang berbeda terhadap sifat antibakterinya. Oleh sebab itu, ekstraksi bahan pada suhu yang berbeda perlu dilakukan.

Metodologi

Bahan

Produk uji adalah gambir komersial yang diperoleh dari tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb var. Cubadak) diproduksi oleh pengrajin gambir di Sumatera Selatan.

Bahan kimia yang digunakan adalah bahan untuk ekstraksi, antara lain kloroform, etil asetat, etanol, dan air. Bakteri yang digunakan meliputi enam jenis, yang merupakan bakteri Gram-positif; *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis* FNCC 0060. Bakteri Gram-negatif yang digunakan adalah *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* FNCC 0139, dan *Shigella flexneri*.

Alat

Unit ekstraktor Soxhlet, Labu Erlenmeyer kapasitas 1 L, *Shaker water bath*, *Rotaportator*, spektrofotometer, autoklaf, inkubator, cawan petri, mikropipet Eppendorf, jarum ose, *Mixer Vortex*.

Cara penelitian

Prosedur ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan berbagai pelarut yang berbeda dan campurannya, dengan susunan seperti pada Tabel I dan Tabel II. Pelarut Tabel I digunakan untuk penelitian dengan metoda maserasi dan Soxhlet. Pelarut Tabel II digunakan untuk penelitian dengan metoda maserasi pada tiga tingkat suhu 4 °C, 30 °C, dan 60 °C. Rendemen ekstraksi adalah bahan terekstrak dibagi dengan bahan baku gambir dikalikan 100 persen.

Ekstraksi dengan menggunakan alat Soxhlet

Sampel bubuk gambir berukuran 40-60 mesh ditimbang sebanyak 60 g, dibungkus kertas saring dimasukkan dalam tabung Soxhlet. Labu Soxhlet diisi dengan pelarut (Tabel I) masing-masing sebanyak 300 mL. Unit Soxhlet dipasang dilengkapi pendingin balik, dan dilakukan pemanasan pada suhu titik didih pelarut, dibiarkan terjadi sirkulasi sampai pelarut menjadi jernih. Larutan yang diperoleh selanjutnya dirotapaporasi dengan tekanan dan suhu sesuai pelarut sampai diperoleh ekstrak kering.

Ekstraksi dengan metoda maserasi

Sampel bubuk gambir berukuran 40-60 mesh ditimbang sebanyak 60 g dimasukkan dalam labu

Tabel I. Jenis pelarut dan campurannya yang digunakan untuk ekstraksi

Kode	Pelarut	Indeks polaritas*)
A	Kloroform - etil asetat (1:1)	$(4,1 + 4,4) = 4,25$
B	Etil asetat	4,4
C	Etil asetat - etanol (1:1)	$(4,4 + 5,2) = 4,8$
D	Etanol	5,2
E	Etanol - air (1:1)	$(5,2 + 10,2) = 7,7$

*)Sumber: Palleros, 1993

Tabel II. Pelarut campuran antara etanol dan air dengan berbagai perbandingannya

Kode	Pelarut	Banyaknya etanol per 100 mL campuran
EA1	Etanol - air = (1:2)	34 mL
EA2	Etanol - air = (1:4)	20 mL
EA3	Etanol - air = (1:6)	14 mL
EA4	Etanol - air = (1:8)	11 mL
EA5	Etanol - air = (0:1)	0 mL

Erlenmeyer 1 L dan ditambah pelarut 300 mL, digoyang selama satu jam untuk mencapai kondisi homogen dalam *shaker water bath*. Selanjutnya, larutan dimaserasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, larutan dipisahkan (difiltrasi) dengan menggunakan kertas saring, ampasnya dimaserasi ulang selama 24 jam lagi dan disaring dengan kertas saring, ulangan dilakukan sampai tiga kali. Filtrat pertama, kedua, dan ketiga digabung dan dievaporasi menggunakan *rotaevaporator* hingga diperoleh ekstrak kering.

Analisis polifenol

Kandungan total fenol ditentukan menggunakan prosedur Folin-Ciocalteu yang dimodifikasi sebagaimana dideskripsikan oleh Chaovanalikit and Wrolstad, 2004. Sebanyak 0,5 mL sampel dari ekstrak atau satu seri standar asam galat (0, 40, 80, 120, 160, dan 200 ppm) dicampur dengan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 50% (Sigma Chemical Co., St. Lois, Mo., U.S.A.) and 7,5 mL *deionised water*. Campuran dibiarkan pada suhu kamar selama 10 menit sebelum penambahan 1,5 mL sodium karbonat 2% (w/v). Campuran selanjutnya dipanaskan pada suhu 40°C dalam *water bath* selama 20 menit, dan secepatnya didinginkan pada *ice-bath* sebelum pengukuran pada λ 755 nm. Blanko digunakan campuran aquades dan reagen. Hasilnya diekspresikan sebagai miligram ekvalen asam galat per berat sampel.

Uji antibakteri metoda difusi sumuran (*disk diffusion assay*)

Uji antibakteri dilakukan terhadap bakteri Gram-positif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, dan *Bacillus subtilis*), dan bakteri Gram-negatif (*Eschericia coli*, *Salmonella typhimorium*, dan *Shigella*

flexneri). Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari koleksi FNCC.

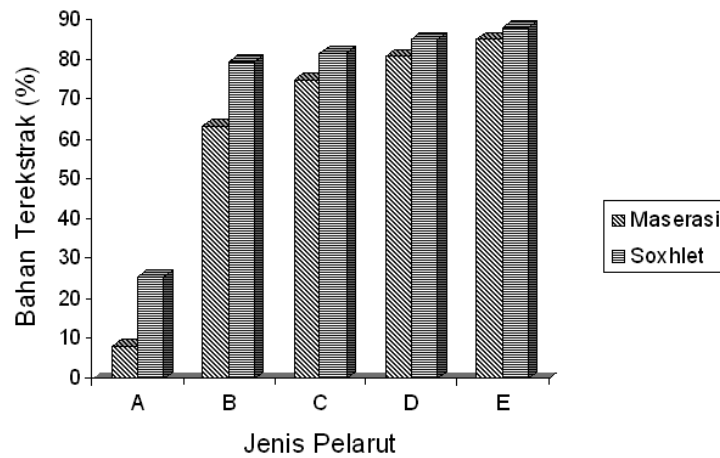
Masing-masing ekstrak dilarutkan dalam DMSO 50 persen (Kajiva *et al.*, 2004). Sebanyak 30 μ l diteteskan pada sumuran media Mueller Hinton Agar (MHA) yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dengan konsentrasi 10^6 sel/mL. Inokulum diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pengamatan terhadap aktivitas penghambatan bakteri dilakukan dengan mengukur diameter daerah hambat (DDH) yang terbentuk di sekitar sumuran (Hamilton-Miller *et al.*, 2000).

Hasil Dan Pembahasan

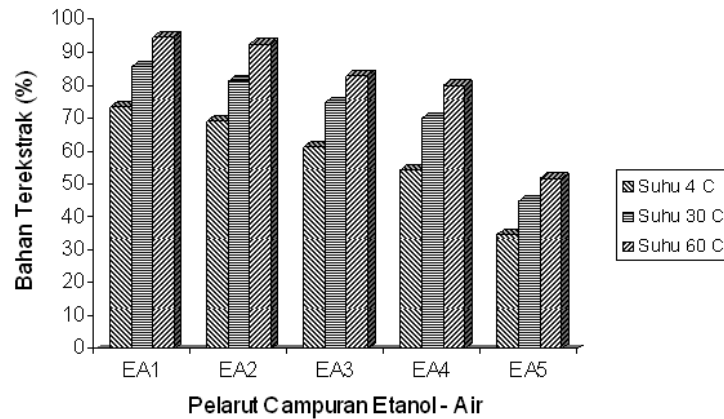
Rendemen ekstraksi

Bahan terekstrak yang diperoleh dari kedua cara ekstraksi semakin tinggi dengan semakin polarnya pelarut. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang bisa terekstrak dalam gambir bersifat polar. Bahan terekstrak paling tinggi dalam hal ini diperoleh dengan menggunakan pelarut campuran etanol dan air pada perbandingan 1:1 (84,77 % (b/b) pada cara maserasi dan 87,69 % (b/b) pada cara Soxhlet).

Ekstraksi dengan Soxhlet memberikan hasil ekstrak yang lebih tinggi karena pada cara ini digunakan pemanasan yang diduga memperbaiki kelarutan ekstrak. Dari Gambar 1 dapat diketahui bahwa makin bersifat polar pelarut menghasilkan bahan terekstrak tidak berbeda untuk kedua macam cara ekstraksi.



Gambar 1. Bahan terekstrak dari gambir dengan berbagai jenis pelarut indeks berbeda (A=kloroform - etil asetat (1:1), B= etil asetat, C=etil asetat+etanol (1:1), D=etanol, dan E=etanol - air (1:1))



Gambar 2. Bahan terekstrak dari gambir dengan pelarut campuran air dan etanol pada perbandingan berbeda (EA₁, etanol - air = 1:2, EA₂, etanol - air (1:4), EA₃, etanol - air (1:6), EA₄, etanol - air (1:8), dan EA₅, etanol - air (0:1))

Dari percobaan ini didapatkan bahwa dari kedua cara ekstraksi yang digunakan dipilih cara maserasi untuk percobaan selanjutnya mengingat cara ini lebih sederhana dan tidak memerlukan energi untuk pemanasan. Dari sisi penggunaan pelarut, campuran etanol dan air dipilih apabila ingin diperoleh jumlah bahan terekstrak lebih tinggi.

Untuk mengetahui lebih jauh pengaruh suhu pada proses ekstraksi menggunakan campuran pelarut etanol dan air pada berbagai tingkat perbandingan dilakukan ekstraksi pada

suhu 4 °C, 30 °C, dan 60 °C serta pelarut etanol dan air perbandingan 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, dan 0:1. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada semua tingkat campuran pelarut makin tinggi suhu didapatkan bahan terekstrak makin besar dan perbedaannya signifikan. Bahan terekstrak tertinggi didapatkan pada campuran etanol dan air 1:2. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Hagerman (2002) bahwa senyawa fenol pada umumnya sulit larut dalam air dingin. Dari percobaan ini didapatkan bahwa bahan terekstrak dari produk

Tabel III. Fenolat total pada bahan terekstrak dari gambir dengan metoda maserasi dan Soxhlet menggunakan berbagai jenis pelarut berbeda

Pelarut	Fenolat total	
	Maserasi	Soxhlet
A	60,02±6,01	66,42±1,70
B	88,30±0,99	90,85±0,59
C	79,93±2,58	81,45±0,74
D	76,66±2,56	79,04±2,60
E	73,40±2,45	75,82±0,18

Keterangan:

A=kloroform - etil asetat (1:1), B=etil asetat, C=etil asetat - etanol (1:1), D=etanol, dan E=etanol - air (1:1)

Tabel IV. Sifat antibakteri bahan terekstrak dari gambir yang diekstraksi dengan maserasi menggunakan berbagai jenis pelarut berbeda

Pelarut	Diameter Daerah Hambat (DDH, mm)		
	<i>S. mutans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
A	6,67	7,00	7,00
B	9,67	9,33	8,33
C	9,00	8,33	8,33
D	8,00	7,67	8,00
E	7,67	7,33	8,00

Keterangan:

A=kloroform + etil asetat 1:1, B= etil asetat, C=etil asetat+etanol 1:1, D=etanol, dan E=etanol + air 1:1) terhadap *S. mutans*, *S. aureus*, dan *B. subtilis*

gambir yang diekstraksi dengan cara maserasi menunjukkan hasil paling besar apabila digunakan campuran pelarut etanol - air (1:2) pada suhu 60 °C.

Fenolat total

Hasil analisis fenolat total pada ekstrak produk gambir yang diperoleh dari cara ekstraksi yang dilakukan pada suhu 4 °C, 30 °C, dan 60 °C serta berbagai macam pelarut (Tabel III). Dari Tabel III dapat diketahui bahwa cara ekstraksi tidak berpengaruh nyata pada fenol total yang diperoleh. Fenol total yang tertinggi didapatkan pada proses ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat.

Dalam ekstrak produk gambir senyawa fenol total merupakan komponen terpenting terkait dengan sifat antibakteri. Dalam hal ini, meskipun hasil terekstrak paling tinggi didapat dari ekstraksi menggunakan campuran pelarut etanol dan air, tetapi mengingat komponen fenol total tertinggi didapat dari ekstraksi menggunakan etil asetat, maka untuk selanjutnya dalam rangka penentuan aktivitas antibakteri dilakukan ekstraksi produk gambir dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut.

Sifat antibakteri

Sifat antibakteri dari ekstrak produk gambir yang diperoleh dengan menggunakan berbagai macam pelarut dan dinyatakan dalam diameter daya hambat (DDH) terhadap bakteri uji (Tabel IV). Dari Tabel IV dapat diketahui bahwa DDH yang tertinggi terjadi pada ekstrak yang diperoleh dari ekstrak menggunakan pelarut etil asetat untuk ketiga macam bakteri uji Gram-positif. Sementara itu, semua ekstrak tidak menunjukkan daya hambat yang berarti pada semua bakteri uji Gram-negatif.

Dari seluruh percobaan yang dilakukan didapatkan bahwa meskipun hasil ekstraksi yang terbesar diperoleh dari proses ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan campuran etanol - air, namun karena kandungan fenolat total (Tabel III) dan sifat antibakteri (Tabel IV) yang terbesar pada ekstrak etil asetat (untuk *S. mutans*, *S. aureus*, dan *B. subtilis* secara berurutan adalah 9,67, 9,33, dan 8,33) maka dapat direkomendasikan bahwa ekstraksi menggunakan etil asetat pada produk gambir menghasilkan ekstrak yang paling besar daya hambatnya pada bakteri Gram-positif. Kenyataan ini sesuai dengan hasil penelitian Smith *et al.*, (2003) bahwa bakteri Gram-positif lebih sensitif

Tabel V. Fenolat total dan sifat antibakteri dengan pelarut ekstrak etanol – air (1:2) pada suhu 4, 30, dan 60 °C.

Suhu (°C)	Fenolat total (%)	Diameter Daerah Hambar (DDH,mm)		
		<i>S. mutans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
4	60,39	7,50	7,33	7,33
30	74,70	7,67	7,50	7,67
60	78,01	7,17	6,33	5,83

terhadap polifenol tertentu dari pada sifat sensitifitas yang sama untuk bakteri Gram-negatif.

Kesimpulan

Dibandingkan dengan cara maserasi, ekstraksi dengan Soxhlet memberikan hasil ekstrak yang lebih tinggi. Makin polar pelarut, bahan terekstrak yang dihasilkan tidak berbeda untuk kedua macam cara ekstraksi.

Fenolat total yang tertinggi didapatkan pada proses ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat.

Sifat antibakteri tertinggi terjadi pada ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat untuk ketiga macam bakteri uji Gram-positif. Semua ekstrak tidak menunjukkan daya hambat yang berarti pada semua bakteri uji Gram-negatif.

Daftar Pustaka

- Chaovanalikit, A. and R. E. Wrolstad, 2004. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *JFS: Food Chem. and Technol.* 69 (1): 67-72.
- Hagerman, A.E. 2002. *Condensed Tannin Structural Chemistry*. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, Oxford, OH 45056.
- Hamilton-Miller, J.M.T. and S. Shah, 2000. Activity of the tea component epicatechin gallate and analogue against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. of Antimicrob. Chem.* 46: 847-863.
- Heyne, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Badan Litbang Kehutanan, Jakarta. Hal. 1767-1775.
- Kajiya, K., H. Hojo, M. Suzuki, F. Nanjo, S. Kumazawa, and T. Nakayama, 2004. Relationship between antibacterial activity of (+)-catechin derivatives and their interaction with a model membrane. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1514-1519.
- Naczka, M., T. Nichols, D. Pink, and F. Sosulski, 1994. Condensed tannins in canola hulls. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2196-2200.
- Palleros, D. R., 1993. *Experimental Organic Chemistry*. John Wiley & Sons. Singapore. P 27.
- Risfaheri, Emmyzar, H. Muhammad, 1993. *Budidaya dan Pascapanen Gambir*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Industri, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian, Jakarta.
- Smith A. H., J.A. Imlay, and R.I. Mackie (2003). Increasing the oxidative stress response allows *Escherichia coli* to overcome inhibitory effect of condensed tannins. *Appl. and Environ. Microb.* 69 (6): 3406-3411.
- Yamamoto, M., S. Nakatsuka, H. Otani, K. Kohmoto, and S. Nishimura, 2000. (+)-Catechin acts as an infection-inhibiting factor in Strawberry leaf. *Biochem. and Cell Biol.* 90 (6) : 595-599.

* Korespondensi : Ir. Rindit Pambayun, M.P.

Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Univ. Sriwijaya

Jalan Palembang Prabumulih, Km. 32 Indralaya OKI

E-mail: rpambayun@yahoo.com