

Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tanaman Rambai Padi (*Sonneratia alba*) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*

*Identification of Flavonoid Compounds from Stem Bark *Sonneratia alba* and its Antibacterial Activities against *Staphylococcus aureus**

Rasidah^{1*}, Syahmani², Rilia Iriani²

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah

²Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan

*Alamat email: rasidah@mipa.upr.ac.id

Abstrak - Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (1) bioaktivitas ekstrak metanol-air kulit batang tanaman rambai padi (*Sonneratia alba*) terhadap *Staphylococcus aureus* (2) konsentrasi minimal ekstrak kulit batang *S. alba* yang mampu menghambat dan membunuh 100% *Staphylococcus aureus* dan (3) jenis senyawa aktif yang terdapat pada kulit batang *S. alba*. Dari uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi menunjukkan bahwa ekstrak metanol:air kulit batang *S. alba* memiliki kemampuan dalam menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) yang diperoleh yakni 0,050 dan 0,075 % untuk ekstrak metanol:air (9:1) dan 0,50 dan 0,75% untuk ekstrak metanol:air (5:5). Hasil bioautografi dan interpretasi data UV-Vis menunjukkan bahwa terdapat 5 (lima) senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri pada ekstrak kulit batang *S. alba* yaitu 3 (tiga) senyawa flavonoid yang terdiri dari jenis flavan (catekin) dan flavonol dengan 3-OH bebas dan 2 unknown senyawa fenolik.

Kata kunci: flavonoid, antibakteri, *Staphylococcus aureus* *Sonneratia alba*, rambai padi

Abstract - This study aims to determine (1) the bioactivity of the methanol-water extract of the stem bark of *Sonneratia alba* against *Staphylococcus aureus* (2) the minimum concentration of the extract to inhibit and kill hundred percent *Staphylococcus aureus* and (3) types of active compounds found in the bark of *Sonneratia alba*. The antibacterial activity test using the dilution method, and the result showed the methanol-water extract of stem bark potential as an antibacterial agent against *Staphylococcus aureus*. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) obtained were 0.025 and 0.05% for methanol:water extract (9: 1) and 0.25 and 0.5% for methanol: water extract (5:5). The results of bioautography and interpretation of UV-Vis data showed that there were five antibacterial compounds in stem bark extracts of *Sonneratia alba*, namely three of them consisting of flavan (catechin) and flavonol types with free 3-OH and the others two of unknown phenolic compounds.

Keywords: flavonoid, antibacterial agent, *Staphylococcus aureus*, *Sonneratia alba*,

© 2019 Jurnal Jejaring Matematika dan Sains. This work is licensed under a [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Sejarah Artikel

Diterima : 19 Desember 2019

Disetujui : 26 Desember 2019

PENDAHULUAN

Pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif pengobatan masih tetap populer hingga saat ini. Salah satunya adalah rambai padi (*Sonneratia alba*). Rambai padi

(*S. alba*) merupakan tanaman mangrove. Di Indonesia, marga *Sonneratia* disebut dengan berbagai macam nama daerah seperti prapat, pedada, padi, mange-mange dan nama daerah lainnya. Di Kalimantan Selatan, tanaman rambai padi banyak dilaporkan mempunyai khasiat

pengobatan. Namun, kebanyakan informasi yang ada hanya sebatas bukti empiris belum ada bukti ilmiah. Manfaat tanaman rambai padi banyak diinformasikan masyarakat namun *Evidence Based Medicine* masih sangat minim.

Ketertarikan terhadap pemanfaatan bahan alam dalam pengobatan karena secara kimiawi tumbuhan dianggap sebagai penghasil senyawa kimia organik (senyawa metabolit sekunder) yang berpotensi bioaktif. Pada banyak kasus, misalnya senyawa fenol berfungsi sebagai mekanisme pertahanan tanaman terhadap predasi oleh mikroorganisme, insekta, dan herbivora. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa senyawaan flavonoid sebagai kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam memiliki aktivitas antimikroba, antivirus, dan antiinsektisida [1-2]. Hal ini menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dapat dipakai dalam pengobatan tradisional.

Flavonoid ditemukan dalam semua tumbuhan hijau, di setiap takson tingkat keluarga bahkan di setiap spesies tumbuhan tingkat tinggi. Hampir semua bagian tanaman termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, buah, bunga, dan biji mengandung flavonoid. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa rambai padi mengandung senyawa flavonoid, steroid, saponin dan tannin pada daun dan mengandung senyawa flavonoid, steroid dan tannin pada akar [3]. Dengan demikian, setiap tanaman yang mengandung senyawa-senyawa tersebut tidak terkecuali tanaman rambai padi (*S. alba*) berpotensi untuk dikembangkan dalam pengobatan khususnya sebagai antibakteri. Selain itu, resistensi antibiotik merupakan masalah besar bagi orang-orang yang bekerja di bidang kesehatan [4]-[6]. Oleh karena itu, pemanfaatan bahan-bahan yang berasal dari alam sebagai obat tradisional ataupun paten masih tetap diminati. Banyak penelitian fitokimia masih terus dilakukan dengan tujuan untuk mencari senyawa baru dan kemudian mengujinya dengan berbagai uji bioaktivitas untuk mengetahui apakah senyawa-senyawa yang telah berhasil diisolasi (baik berupa senyawa murni atau ekstrak kasar) dan diidentifikasi dapat dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari.

Pada kasus uji bioaktivitas untuk mengetahui potensi antibakteri seperti *Staphylococcus aureus* sangat penting karena *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama pada manusia. Diperkirakan bakteri ini terdapat pada 20% orang dalam kesehatan yang tampaknya baik. Pada manusia, *Staphylococcus aureus* ditemukan antara lain terdapat dalam ingus dan dahak, tangan dan kulit, pada luka yang terinfeksi, serta pada bisul dan jerawat. *Staphylococcus aureus* juga terdapat dalam feses dan rambut [7].

Staphylococcus aureus dapat menginfeksi jaringan tumbuh manusia di mana saja. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan, dan menyebar luas ke dalam

jaringan serta mampu memproduksi bahan ekstra seluler. Biasanya bakteri ini menyebabkan penyakit kulit seperti alergi dan eksim. Bakteri ini juga dapat menyebabkan terjadinya septikemia (keracunan darah karena aktivitas bakteri), endokarditis (radang endokardium jantung), meningitis (radang selaput otak), abses serebri (bisul pada otak besar), impetigo (pembengkakan pada epidermis kulit), sepsis puerpuralis (demam sehabis melahirkan), pneumonia (radang paru-paru), carbunkel (peradangan yang meluas dan mengenai folikel rambut) dan furunkel (bisul atau rongga berisi nanah) [8]. Atas pertimbangan tersebut, peneliti tertarik untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif pada kulit batang tanaman rambai padi (*S. alba*) yang berperan dalam aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Seperangkat alat-alat gelas dan plastik, Chamber KLT, Pipa kapiler, Neraca analitik AND tipe GR-2000, Seperangkat alat sokhletasi, alat maserasi, *rotatory evaporator*, *Hot plate* Branstead Termolyne tipe Sp 47230, Oven Karbolite AAF 11/3 person lane, Lampu UV VL-6. LC, Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1700, Inkubator Memmert, Mikropipet steril, Autoclave, dan Jarum inokulasi/ose.

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu kulit batang tanaman rambai padi (*S. alba*) yang diperoleh dari kota Banjarmasin Provinsi Kalimantan Selatan, Bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), MSA (*Mannitol Salt Agar*), air kaldu, kertas saring, plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT F₂₅₄), ampicylin injeksi 1%, metanol, akuades, n-heksana, etanol, fenol, n-butanol, kloroform, natrium hidroksida, natrium asetat anhidrat, asam borat anhidrat, ferri klorida, asam asetat glasial, tetrazolium klorida. Bahan kimia yang digunakan grade p.a E.merck.

B. Prosedur Penelitian

Ekstraksi Senyawa Bahan Alam Sebanyak 65 g serbuk kulit batang tanaman rambai padi disokhletasi dengan 360 mL metanol:air (9:1) hingga diperoleh larutan bening. Sisa ampas dimaserasi dengan 120 mL metanol:air (5:5) selama 4 hari. Ekstrak hasil sokhletasi dan maserasi masing-masing difraksinasi dengan 30 mL n-heksana. Ekstrak yang larut dalam fraksi air diuapkan dengan evaporator sehingga didapat 2 buah ekstrak pekat. Ekstrak pekat didiamkan selama 24 jam hingga mengendap dan diperoleh ekstrak padat dan ekstrak cair.

Pemisahan dan Pemurnian Komponen-Komponen Kimia dengan KLT Ekstrak cair ditotolkan pada plat KLT F₂₅₄ ukuran ukuran 20 x 20 cm dan dielusi menggunakan PhOH (PhOH:H₂O = 3:1) dilanjutkan dengan BEA ((n-BuOH:HOAc:H₂O = 4:1:2,2). Kemudian, plat KLT

dikeringkan dan sinari dengan lampu UV untuk memastikan letak bercak yang diperoleh.

Uji Aktivitas antibakteri dengan Metode Dilusi Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dalam kaldu umur 6 jam 35°C yang telah memenuhi standar kekeruhan Mc. Farland 0,5 ditambahkan ke dalam masing-masing larutan uji sehingga diperoleh konsentrasi 0; 0,005; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,25, 0,5; 0,75 dan 1% . Kemudian dinkubasi selama 24 jam dengan suhu 35 °C. Larutan dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan adanya kekeruhan atau pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Selanjutnya, Sebanyak 1 mL larutan uji yang berisi suspensi kuman yang tidak menunjukkan adanya kekeruhan dicampurkan ke media MSA dan diamkan selama 24 jam pada suhu 35°C di dalam inkubator [7]. Larutan dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan adanya perubahan warna media MSA atau pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Jumlah koloni bakteri pada media MSA dihitung dan dibandingkan dengan larutan ampicylin 1% untuk kontrol positif (+) dan akuades untuk kontrol negatif (-).

Uji Bioautografi Uji ini dilakukan secara *overlay* dengan menuangkan media agar yang telah dicampur dengan mikroorganisme di atas permukaan plat KLT dan menginkubasi selama 24 jam. Area hambatan dilihat dengan penyemprotan menggunakan tetrazolium klorida. Senyawa aktif sebagai antimikroba akan tampak sebagai area jernih dengan latar belakang ungu.

Identifikasi Komponen Senyawa dengan Spektrofotometer UV-Vis Noda-noda pada plat KLT yang menunjukkan aktivitas antimikroba dikerok dan dilarutkan pelarut metanol. Masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang 200-500 nm sebelum dan sesudah penambahan masing-masing pereaksi geser berupa NaOH, NaOAc, dan NaOAc+ H₃BO₃ [9].

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi Senyawa Bahan Alam

Pemisahan komponen senyawa dilakukan menggunakan 4 macam eluen, yaitu BAA, PhOH, BEA dan HOAc 6%. Tabel 1 memberikan informasi pendahuluan hasil kromatogram pemisahan komponen senyawa ke empat eluen tersebut. Berdasarkan data Tabel 1, pemisahan yang paling baik diperoleh dengan menggunakan eluen PhOH dan BEA karena mampu memberikan pemisahan dengan noda terbanyak sehingga digunakan untuk tujuan preparatif. Proses pemisahan diawali dengan penggunaan eluen PhOH dan dimurnikan dengan BEA. BEA merupakan pengembang/pengelusi berkemampuan rendah sehingga ideal untuk pemurnian akhir[10]. Pemisahan yang terjadi pada proses elusi ini sangat tegas terlihat dari jumlah noda yang dihasilkan

yakni 8 noda untuk ekstrak methanol-air (9:1) dan 4 noda untuk ekstrak methanol-air (5:1) seperti pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil uji pendahuluan pemisahan senyawa dengan KLT

Eluen	Sampel	Jumlah Noda	Keterangan
BAA	Cairan I	1	-
	Cairan II	1	-
PhOH	Cairan I	3	Jarak antarnoda cukup jauh.
	Cairan II	1	Noda berupa garis
BEA	Cairan I	3	Beberapa noda berimpit
	Cairan II	4	Noda berupa garis
HOAc 6%	Cairan I	2	-
	Cairan II	1	-

Ket: Cairan I yaitu fraksi air hasil ekstraksi methanol:air (9:1) dan Cairan II yaitu fraksi air hasil ekstraksi methanol:air (5:5)

Hasil pemisahan dan pemurnian dengan KLT kedua ekstrak methanol:air disajikan pada tabel 2. Masing-masing noda yang diperoleh memiliki harga Rf yang berbeda dan dapat dibedakan dengan jelas dari perbedaan tampilan warna yang dihasilkannya di bawah lampu UV. Senyawa yang menghasilkan warna coklat dan hijau-kuning adalah senyawa flavonoid golongan flavon dan flavonol. Meskipun demikian, bercak yang terlihat tersebut harus dianggap bukan flavonoid sebelum diperiksa lebih lanjut dengan spektroskopi UV-Vis. Selain itu, bilangan Rf hanya kira-kira saja terulangkan di beberapa laboratorium. Oleh karena itu, adanya korelasi nyata dengan bilangan Rf pustaka harus dianggap sebagai petunjuk identifikasi saja sebelum dilakukan kromatografi berdampingan terhadap cuplikan flavonoid autentik (baku) yang telah diketahui[10].

B. Uji Aktivitas antibakteri dengan Metode Dilusi

Hasil uji antibakteri terhadap kedua ekstrak cair metanol-air kulit batang *S. alba* menunjukkan bahwa secara umum ekstrak metanol-air kulit batang *S. alba* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* seperti yang terlihat pada Gambar 1. Sejumlah konsentrasi ditetapkan sebagai dosis yang memberikan hasil positif dan sebagian lainnya ditetapkan sebagai dosis yang memberikan hasil negatif terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* berdasarkan pemenuhan terhadap kriteria daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* total (100%) dan daya bunuh *Staphylococcus aureus* total (100%) dibandingkan dengan kontrol. Daya hambat dan daya bunuh terhadap *Staphylococcus aureus* diamati secara berturut-turut dari perubahan warna pada media air kaldu dan MSA. Adanya pertumbuhan *Staphylococcus aureus* membuat warna air kaldu menjadi keruh setelah diinkubasi sedangkan hasil positif terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media MSA ditunjukkan dari pertumbuhan koloni berwarna kuning yang disertai perubahan warna media agar menjadi kuning-oranye.

Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada media agar akan menghasilkan koagulase yang mengkoagulasi manitol sehingga mengakibatkan pH media agar menurun dan warna indikator merah fenol berubah menjadi kuning.



Gambar 1. Hasil pengujian antibakteri ekstrak cair metanol-air terhadap *Staphylococcus aureus*

Dari konsentrasi yang diujikan pada Tabel 3, ekstrak cairan metanol:air (9:1) menunjukkan aktivitas menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus*

aureus yang lebih tinggi dari ekstrak cairan methanol:air (5:5). Ekstrak cairan metanol-air (9:1) aktif menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* secara total pada kisaran konsentrasi yang sangat rendah yakni 0,050% dan 0,075 % sementara ekstrak cairan methanol:air (5:5) aktif menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada kisaran konsentrasi 0,50% dan 0,75%. Dengan kata lain, ekstrak cairan metanol-air (9:1) memiliki kemampuan 10 kali lebih efektif dalam menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengaruh pemberian ekstrak ekstrak cairan methanol:air (9:1) terhadap kemampuan menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* secara kuantitatif ditunjukkan dari jumlah koloni yang tumbuh antara kelompok bakteri yang diberi perlakuan dan tidak diberi perlakuan (Tabel 3). Pertumbuhan bakteri mulai berkurang hingga 100 % (dari $7,5.10^8$ koloni bakteri) pada kelompok yang diberi perlakuan dengan ekstrak metanol-air kulit batang *S. alba* seiring dengan peningkatan konsentrasi larutan uji pada batas tertentu.

Tabel 2 Hasil pemisahan dan pemurnian komponen senyawa kulit batang *S. alba*

Sampel	Jumlah Noda	KLT				Uji Bioautografi	Prediksi Senyawa Antibakteri
		Tinggi Noda (cm)	Warna Noda dengan lampu UV ($\lambda=365$ nm)	Rf (x 100)	Kode Noda		
Cairan I	8	0,8	Coklat	4,9	1	-	Katekin
		2,3	Kuning-hijau	14,11	2	+	Tidak diujikan
		6,25	Kuning murup	38,34	3	+	Tidak diujikan
		8,2	Orange	50,31	4	+	Tidak diujikan
		9,3	Kuning terang	57,06	5	+	Tidak diujikan
		12,125	Coklat	74,39	6	-	Senyawa Fenolik
		12,85	Coklat terang	78,83	7	-	Senyawa flavonol
		15,85	Kuning-hijau	97,24	8	-	Senyawa flavonol
Cairan II	4	7,95	Orange	46,9	9	+	Tidak diujikan
		9	Kuning murup	53,1	10	+	Tidak diujikan
		13,9	Coklat	82	11	-	Senyawa Fenolik
		16,75	Hijau	98,82	12	+	Tidak diujikan

Ket: + = ada pertumbuhan bakteri; - = tidak ada pertumbuhan bakteri.

Tabel 3. Aktivitas antibakteri ekstrak cair kulit batang *S. alba*

Aktivitas Antibakteri	Sampel	Konsentrasi (%)										Kontrol (-)
		Kontrol (+)	0	0,005	0,025	0,05	0,075	0,1	0,25	0,5	0,75	
Daya hambat	Cairan I	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cairan II	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Daya bunuh	Cairan I	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Cairan II	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Jumlah koloni <i>Staphylococcus aureus</i>	Cairan I	$7,5.10^8$	$4,5.10^4$	$1,5.10^4$	$3,7. 10^2$	0	0	0	0	0	0	0

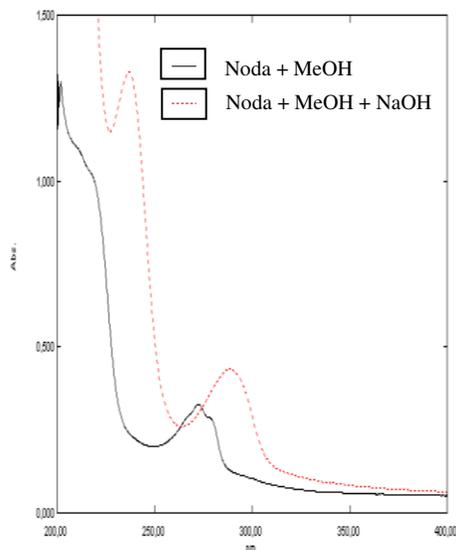
Ket: + = ada pertumbuhan bakteri; - = tidak ada pertumbuhan bakteri, kontrol (+)= larutan ampicylin 1 % dan kontrol (-)= akuades

C. Uji Bioautografi dan Identifikasi Komponen Senyawa Antibakteri

Kemampuan menghambat dan membunuh bakteri yang dimiliki kedua ekstrak metanol-air kulit batang *S. alba* mengindikasikan bahwa kedua ekstrak tersebut mengandung senyawa-senyawa yang bersifat antibakteri. Jumlah dan jenis senyawa aktif khususnya senyawa fenolik (terutama flavonoid) pada kedua ekstrak metanol-air kulit batang *S. alba* dapat ditelusuri dengan uji bioautografi terhadap noda hasil pemisahan dengan KLT dari ekstrak cair kulit batang *S. alba*. Berdasarkan data uji bioautografi yang disajikan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa tidak semua senyawa/noda yang teridentifikasi dari hasil pemisahan dan pemurnian dengan KLT bersifat antibakteri. Dari 13 noda yang diujikan, hanya diperoleh 5 noda/senyawa aktif yang menunjukkan aktivitas antibakteri yakni senyawa dengan kode noda 1, 6, 7, 8 dan 11.

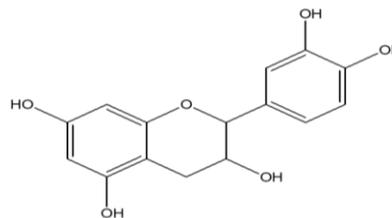
Senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV. Spektrum senyawa fenol dalam alkohol secara khas menunjukkan pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih besar (mengalami geser batokrom) dengan absorpsi yang meningkat bila ditambahkan alkali. Kelima senyawa aktif tersebut ditetapkan sebagai golongan senyawa fenolik berdasarkan spektrum UV yang dihasilkannya pada penambahan larutan NaOH.

Noda 1- Hasil spektrofotometri UV-Vis noda ke-1 dari ekstrak cairan I (Gambar 2) memberikan 2 pita serapan yang karakteristik untuk senyawa flavonoid, yaitu serapan pada panjang gelombang 272,6 nm (pita I) dan 202,2 nm (pita II). Berdasarkan harga serapan yang ditunjukkan, kedua serapan yang dimiliki senyawa ini memenuhi kriteria rentang senyawa flavonoid golongan katekin. Spektrum UV-Vis golongan senyawa flavan yaitu katekin memberikan serapan khas pada panjang gelombang maksimum 269-279 dengan pola yang serupa dengan noda 1 pada Gambar 2[9]. Spektrum senyawa ini tidak menunjukkan serapan yang berarti pada panjang gelombang 300-550 nm karena katekin tidak mempunyai gugus karbonil (C=O) pada kerangka dasarnya (Gambar 3). Tidak adanya serapan pada daerah tersebut menunjukkan tidak adanya eksitasi elektron $n \rightarrow \pi^*$ untuk sistem cincin aromatik yang tersubstitusi oleh gugus keton seperti kebanyakan jenis flavonoid lainnya.



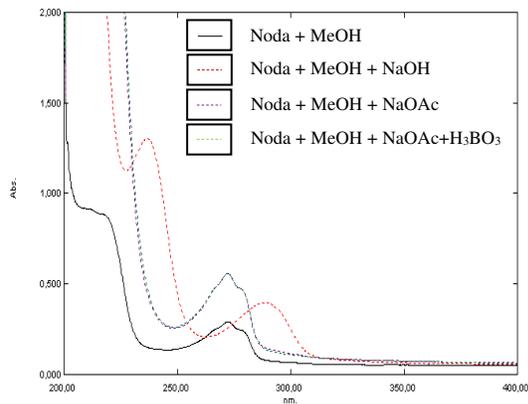
Gambar 2. Spektrum UV-Vis noda 1

Penentuan jenis flavonoid dilakukan dengan memperhatikan (1) bentuk umum spektrum MeOH, (2) panjang gelombang pita serapan dan (3) data kromatografi kertas[10]. Berdasarkan pernyataan tersebut, kemiripan bentuk umum spektrum MeOH dengan literatur [11] menjadi indikasi utama dalam penentuan jenis senyawa flavonoid. Serapan maksimum dapat bervariasi tergantung jenis katekin dan pelarut yang digunakan[11]. Variasi serapan yang diperoleh dari berbagai sumber dapat diabaikan selama masih dalam rentang jarak serapan dan menunjukkan adanya persamaan pola serapan pada spektrum senyawa yang bersangkutan. Dengan demikian, spektrum senyawa dengan kode noda 1 merupakan senyawa flavonoid jenis flavan yaitu katekin.



Gambar 3. Perkiraan struktur dasar senyawa noda 1

Noda 6- Serapan UV (MeOH) senyawa ini (Gambar 4) memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 272,4 dan 341,6 nm. Nilai serapan ini menggambarkan adanya sistem aromatis yang semakin diperjelas oleh adanya pergeseran batokromik pada penambahan NaOH yang menunjukkan adanya kromofor fenol.

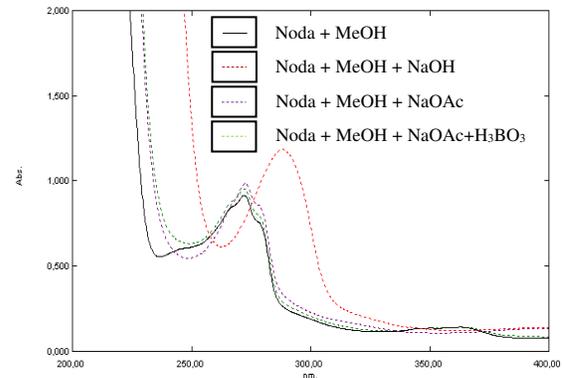


Gambar 4. Spektrum UV-Vis noda 6

Dari harga serapan yang ditunjukkan, senyawa ini termasuk dalam rentang spektrum senyawa flavonoid jenis flavon. Namun, kedua pita serapan yang dimiliki senyawa dengan kode noda 6 ini menunjukkan pergeseran hipsokrom yang tidak lazim untuk senyawa flavonoid. Selain itu, harga serapan pada 341,6 nm kiranya terlalu kecil untuk ditafsirkan sebagai pita maksimum dari suatu senyawa flavonoid. Serapan pada panjang gelombang tersebut lebih tampak seperti struktur halus (*fine structure*). Adanya spektrum halus merupakan sifat karakteristik suatu molekul aromatik sederhana.

Nilai serapan yang ditunjukkan oleh senyawa dengan kode noda 6 menggambarkan adanya sistem aromatis yang khas untuk semua senyawa fenolik tetapi bukan berasal dari senyawa flavonoid. Sebagai konsekuensinya, struktur kerangka dasar dan pola oksigenasi senyawa ini tidak dapat ditentukan sekalipun kuat dugaan bahwa senyawa ini merupakan senyawa fenolik sederhana. Banyaknya senyawa yang termasuk dalam kategori senyawa fenolik dan tidak ditemukannya senyawa rujukan dengan pola spektrum dan serapan yang serupa dengan spektrum senyawa ini memberikan banyak kemungkinan jenis dan struktur senyawa fenolik.

Noda 7- Spektrum UV (MeOH) senyawa ini (Gambar 5) memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 272 nm yang merupakan pita II dan 362,4 nm yang merupakan pita I dari senyawa flavonoid. Kedua serapan maksimum ini termasuk dalam rentangan serapan spektrum jenis senyawa flavonol dengan 3-OH bebas.



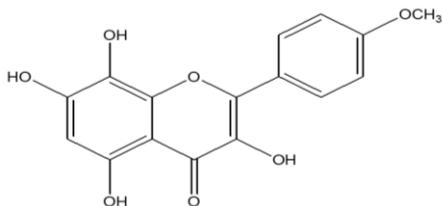
Gambar 5. Spektrum UV-Vis noda 7

Oksigenasi pada senyawa ini ditunjukkan dari perubahan serapan pita setelah penambahan sejumlah pereaksi geser. Pada penambahan natrium hidroksida terjadi pergeseran batokromik sebesar 36,4 nm yang disertai penurunan intensitasnya serapan maksimum pita I menjadi 398,8 nm. Penafsiran data pergeseran ini menunjukkan tidak adanya 4'-OH bebas pada cincin B. Cincin B yang tidak teroksidasi sangat jarang ditemukan sehingga sangat besar kemungkinan pola oksigenasi yang terjadi pada posisi 4' merupakan alkoksilasi (metoksilasi).

Pola oksigenasi pada noda 7 semakin tampak dengan hasil serapan senyawa setelah penambahan pereaksi geser NaOAc. Spektrum UV (NaOAc) senyawa memperlihatkan pergeseran batokromik pada pita II dari 272 nm menjadi 272,4 nm. Meskipun pergeseran ini relatif lebih kecil untuk ditafsirkan sebagai adanya oksigenasi pada C₇ jika dibandingkan dengan data yang disajikan sebesar +5 sampai 20 nm, natrium asetat digunakan terutama untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil bebas. Selain itu, pergeseran pada pita II untuk senyawa flavonol dapat mengalami pengurangan bila ada oksigenasi pada karbon 6 atau 8 [10], [12]. Dengan demikian maka pergeseran panjang gelombang pada pita II ini dapat ditafsirkan sebagai adanya oksigenasi pada C₇ yang disertai pula dengan adanya oksigenasi pada C₆ atau C₈.

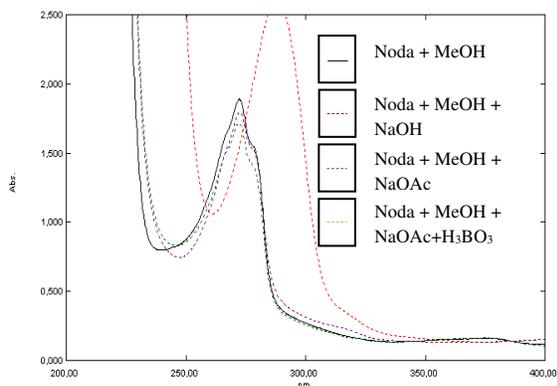
Keberadaan gugus hidroksi pada atom C dengan posisi 7 dan posisi 6 atau 8 pada penafsiran spektrum UV dengan NaOAc dipertegas dengan serapan yang ditunjukkan pada penambahan NaOAc+H₃BO₃ yang memberikan pergeseran lebih kecil sebagai indikasi adanya gugus o-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8). Hasil menunjukkan bahwa tidak ada o-diOH pada cincin B. Kemudian senyawa turunan untuk jenis flavon dan flavonol dengan hidroksilasi 2', 4',6' jarang ditemukan pada cincin B sedangkan hidroksilasi pada posisi 3' dan 5' hanya terjadi jika posisi 4' dihidroksilasi [13]. Berdasarkan uraian di atas,

maka senyawa dengan kode noda 7 mengarah pada struktur flavonol (3,5,7,8) seperti pada Gambar 7.



Gambar 6. Perkiraan struktur dasar senyawa Noda 7

Noda 8- Senyawa dengan kode noda 8 memiliki dua serapan pita (Gambar 7) akibat transisi berturut-turut dari $\pi-\pi^*$ dan $n-\pi^*$ pada 272,4 nm (pita II) dan 366,6 nm (pita I) yang merupakan serapan senyawa flavonol dengan 3-OH. Serupa dengan noda 7, kedua serapan ini masing-masing berhubungan dengan resonansi gugus sinamil yang melibatkan cincin B dan gugus benzoil yang melibatkan cincin A dari molekul flavonol.

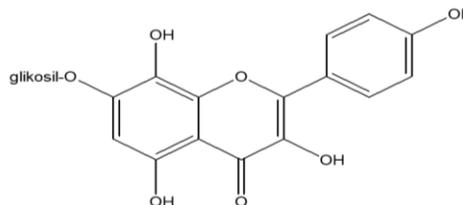


Gambar 7. Spektrum UV-Vis noda 8

Adanya gugus hidroksil bebas pada posisi 3 senyawa dengan kode Noda 8 diperkuat dengan adanya penurunan/penguraian serapan pita I pada penambahan NaOH. Selain itu, penambahan pereaksi geser NaOAc pada larutan senyawa ini hanya menyebabkan penurunan kekuatan serapan pada kedua pita tanpa menyebabkan adanya pergeseran panjang gelombang pita II ke panjang gelombang serapan yang lebih tinggi. Dari data tersebut memberikan arti bahwa pada senyawa ini tidak terdapat gugus 7-OH bebas melainkan menunjukkan adanya gugus 3,4'-diOH. Flavonol yang mengandung gugus hidroksil bebas pada posisi 3 dan 4' akan terurai oleh basa dan dapat dideteksi dengan penurunan serapan pada pita panjang gelombang tinggi [14].

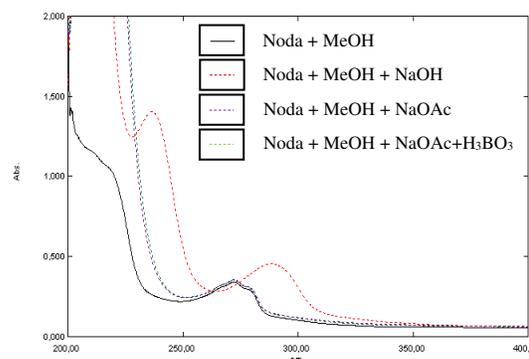
Penurunan intensitas serapan juga ditemukan pada serapan pita I setelah penambahan pereaksi geser

NaOAc + H₃BO₃ yang mengindikasikan tidak adanya gugus o-diOH pada cincin A maupun cincin B. Dengan demikian, penafsiran spektrum senyawa dengan kode noda 8 ini mengarah pada struktur flavonol dengan OH pada posisi atom C nomor 3, 5, 8, dan 4' seperti pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur dasar senyawa noda 8

Noda 11- Dua serapan yang dihasilkan noda 11 (Gambar 9) yakni pada panjang gelombang 341,2 dan 272 nm mirip dengan serapan yang dimiliki oleh noda 6. Berdasarkan fakta tersebut, seperti halnya noda 6 maka sukar dipastikan bahwa senyawa ini termasuk dalam golongan flavonoid. Tidak ditemukannya senyawa rujukan dengan pola spektrum yang serupa dengan spektrum senyawa ini dan banyaknya kemungkinan senyawa yang termasuk dalam kategori senyawa fenolik memberikan kesulitan yang besar dalam menentukan struktur kerangka dasar senyawa ini.



Gambar 9. Spektrum UV-Vis noda 11

D. Pengaruh Senyawa Ekstrak Kulit Batang Tanaman Rambai Padi (*S. alba*) terhadap *Staphylococcus aureus*

Daya hambat dan daya bunuh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* disebabkan adanya sejumlah kandungan senyawa kimia aktif yang terdapat dalam kulit batang *S. alba* seperti yang ditunjukkan dari hasil uji bioautografi. Dari hasil uji tersebut dan analisis komponen senyawa menggunakan spektrofotometri UV-Vis diketahui bahwa senyawa aktif yang dapat

menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah senyawa fenolik yang didominasi oleh senyawa flavonoid jenis flavan yaitu katekin (flavan-3-ol) dan flavonol dengan 3-OH bebas.

Studi literatur menunjukkan adanya hubungan antara struktur flavonoid dan aktivitas antibakteri [15]. Hidroksilasi di posisi 5 pada cincin A berperan penting dalam meningkatkan aktivitas antibakteri [16]. Sejalan dengan temuan tersebut, pada penelitian ini senyawa katekin (flavan-3-ol) yang teridentifikasi pada noda dengan kode 1 maupun senyawa flavonol dengan 3-OH bebas yang teridentifikasi pada noda 7 dan 8, ketiga senyawa tersebut memiliki gugus OH yang terikat pada rantai C nomor 5 di cincin A.

Jika ditelusuri lebih mendalam ekstrak tumbuhan yang kaya flavonoid telah digunakan selama berabad-abad untuk pengobatan penyakit manusia [17]. Flavonoid telah diakui mempunyai suatu efek perlindungan bagi tanaman dalam menghambat invasi mikroba. Oleh karena itu, pada dasarnya bukan suatu hal yang mengejutkan apabila flavonoid ditemukan sebagai substansi antimikroba yang secara *in vitro* efektif melawan sederetan luas mikroorganisme karena sejak pertama senyawa metabolit sekunder ini disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi mikroba [18], [19].

Lebih dari 6400 senyawa flavonoid menunjukkan berbagai sifat yang menarik termasuk sifat antibakteri, antiprotozoa, antiinflamasi, antioksidan, aktivitas vaskular dan estrogenik. Satu di antaranya adalah senyawa katekin [1]. Senyawa katekin diketahui mampu menghambat *Vibrio cholerae* 01 dan *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Senyawa ini juga dilaporkan bersifat sangat toksik terhadap penurunan pertumbuhan *Azospirillum lipoferum* dan *Bacillus* sp. dengan hasil berkisar antara 94-99,9 % dan 73-99 %. Selain itu, katekin juga bersifat toksik terhadap *Lactobacillus* sp. dan *Escherichia coli* dengan hasil berkisar antara 59-96 % dan 45-83 % [17].

Berdasarkan mekanisme aksinya, antibiotik dibedakan menjadi lima, yaitu antibiotik dengan mekanisme penghambatan sintesis dinding sel, perusakan membran plasma, penghambatan sintesis protein, penghambatan sintesis asam nukleat dan penghambatan sintesis metabolit esensial [8]. Di antara berbagai mekanisme kerusakan yang dapat terjadi pada sel bakteri tersebut, berbagai mekanisme antibakteri dari flavonoid yang berbeda telah dikemukakan termasuk penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma dan penghambatan metabolisme energi [15].

Sebagai suatu kelompok senyawa aromatik terbesar, flavonoid juga termasuk dalam golongan senyawa polifenol. Polifenol dilaporkan menampilkan

aktivitas antibakteri dengan karakteristik yang berbeda dalam reaktivitasnya dengan protein [20]. Penghambatan mikroorganisme ini oleh senyawa fenolik mungkin disebabkan oleh penghilangan besi atau ikatan hidrogen terhadap protein yang vital [21]. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi, fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis [22]. Protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Apabila proses perakitan dinding sel bakteri terhambat maka dinding sel menjadi lemah dan akan mengalami lisis sehingga bakteri segera kehilangan kemampuan untuk melindungi diri yang akan diikuti dengan kematian bakteri [8].

Berdasarkan uraian di atas, hasil dari penelitian ini menunjukkan suatu rasionalitas dibalik penggunaan rambai padi (*Sonneratia alba*) dalam pengobatan tradisional. Sebagai pemahaman awal ditekankan kembali bahwa jenis pelarut ekstraksi sangat menentukan khasiat antibakteri. Hal ini karena ekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda menghasilkan jenis dan jumlah komponen senyawa yang berbeda sehingga berpengaruh terhadap sifat antibakteri yang dimiliki oleh setiap ekstrak. Dari hasil uji biotografi dan interpretasi hasil UV-Vis, senyawa yang tidak larut pada ekstraksi pertama dengan methanol:air (9:1) pada akhirnya ditemukan dapat terekstrak pada ekstraksi kedua menggunakan methanol:air (5:5).

Adanya kandungan senyawa aktif dalam jumlah dan jenis yang berbeda pada kedua ekstrak *S. alba* yang diujikan ini memberikan sedikit penjelasan atas adanya perbedaan efektivitas dalam perolehan kisaran konsentrasi minimum aktif yang mampu menghambat dan membunuh *Staphylococcus aureus* yang disajikan pada Tabel 3. Meskipun demikian, masih terlalu dini untuk menyatakan bahwa senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak methanol:air (5:5) memiliki potensi yang rendah dibandingkan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak methanol:air (9:1). Hanya karena ekstrak methanol:air (9:1) memberikan kemampuan aktivitas antibakteri 10 kali yang lebih baik dari ekstrak methanol:air (5:5) belum dapat menjelaskan aktivitas antibakteri senyawa-senyawa tersebut dalam bentuk senyawaan murni. Hasil penelitian ini hanya menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dari rambai padi (*S. alba*) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan berpotensi sebagai sumber agen antibakteri. Mengacu pada hal tersebut maka

sebuah penelitian yang menyeluruh dengan maksud untuk menemukan/mengisolasi serta mengkaji potensi senyawa aktif antibakteri dari rambai padi terhadap berbagai jenis mikroorganisme lainnya kiranya akan sangat berguna dalam pencarian alternatif terapi antimikroba baru.

KESIMPULAN

Ekstrak kulit batang tanaman rambai padi (*Sonneratia alba*) mengandung banyak senyawa fenolik termasuk golongan flavonoid. Namun, tidak semua senyawa tersebut memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*. Dari 12 senyawa yang berhasil dipisahkan, hanya 5 senyawa yang terindikasi berpotensi sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*. Kelima senyawa tersebut terdiri dari 1 senyawa flavan (katekin), 2 senyawa flavonol, dan 2 *unknown* senyawa fenolik. Senyawa-senyawa tersebut (mungkin secara individu atau sinergi) memberikan khasiat antibakteri dengan MIC dan MBC sebesar yakni 0,050 dan 0,075 % untuk ekstrak metanol:air (9:1) dan 0,50 dan 0,75% untuk ekstrak metanol:air (5:5).

REFERENSI

- [1] J. B. Harborne and C. A. Williams, "Advances in Flavonoid research since 1992," *Phytochemistry*, vol. 55, no. 6, pp. 481–504, 2000.
- [2] F. Farhadi, B. Khameneh, M. Iranshahi, and M. Iranshahi, "Antibacterial activity of flavonoids and their structure – activity relationship: An update review," *Phyther. Res.*, vol. 33, no. 1, pp. 13–40, 2019.
- [3] N. Rahmania, Herpandi, and Rozirwan, "Phytochemical Test of Mangrove *Avicennia alba*, *Rhizophora apiculata* and *Sonneratia alba* from Musi River Estuary, South Sumatera," *Biovalentia Biol. Res. J.*, vol. 4, no. 2, pp. 1–8, 2018.
- [4] I. M. Gould, "International Journal of Antimicrobial Agents The epidemiology of antibiotic resistance," pp. 2–9, 2008.
- [5] G. M. Rossolini and E. Mantengoli, "Antimicrobial resistance in Europe and its potential impact on empirical therapy," vol. 14, pp. 2–8, 2008.
- [6] M. Akova, "Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections," *Virulence*, vol. 7, no. 3, pp. 252–266, 2016.
- [7] G. H. Chapman, "The Significance of Sodium Chloride in Studies Staphylococci," *J. Bacteriol.*, vol. 50, no. 2, pp. 201–203, 1945.
- [8] E. Jawetz, J. L. Melnick, and E. A. Adelberg, *Medical Microbiology*, Twenty-Six. The McGraw-Hill Companies, Inc, 2013.
- [9] T. J. Mabry, K. R. Markham, and M. B. Thomas, "Reagents and Procedures for the Ultraviolet Spectral Analysis of Flavonoids," in *The Systematic Identification of Flavonoid*, Springer Berlin Heidelberg, 1970, pp. 35–40.
- [10] T. J. Mabry, K. R. Markham, and M. B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 1970.
- [11] T. Atomssa and A. V. Gholap, "Characterization and determination of catechins in green tea leaves using UV-visible spectrometer," *J. Eng. Technol. Res.*, vol. 7, no. 1, pp. 22–31, 2015.
- [12] K. en. R. Markham and T. O. M. Mabry, "Ultraviolet-Visible and Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoids," in *The Flavonoids*, J. B. Harbone, T. J. Mabry, and H. Mabry, Eds. Springer Boston MA, 1975, pp. 45–77.
- [13] M. Iinuma, M. Ohyama, T. Tanaka, M. Mizuni, and S. Hong, "Three 2',4',6'-Trioxxygenated Flavonones in Roots of *Echinosophora Koreensis*," *Phytochemistry*, vol. 31, no. 2, pp. 665–669, 1992.
- [14] K.-H. A. Rosler, D. P. C. Wong, and T. J. Mabry, "Problems With Ultraviolet Spectroscopy of Flavonoids using Sodium Acetate in Methanol," *J. Nat. Prod.*, vol. 48, no. 5, pp. 837–840, 1985.
- [15] T. P. T. Cushnie and A. J. Lamb, "Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids," *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 38, pp. 99–107, 2011.
- [16] L. E. Alcaraz, S. E. Blanco, O. N. Puig, F. Tomas, and F. H. Ferretti, "Antibacterial Activity of Flavonoids Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains," *J. theor. Biol.*, vol. 205, pp. 231–240, 2000.
- [17] Q. Kanwal, I. Hussain, H. L. Siddiqui, and A. Javaid, "Flavonoids from mango leaves with antibacterial activity," *J. Serb. Chem. Soc.*, vol. 74, no. 12, pp. 1389–1399, 2009.
- [18] B. Özçelik, D. D. Orhan, S. Özgen, and F. Ergun,

- “Antimicrobial Activity of Flavonoids against Extended-Spectrum β -Lactamase (ES β L) - Producing *Klebsiella pneumoniae*,” *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 7, no. December, pp. 1151–1157, 2008.
- [19] D. Treutter, “Significance of flavonoids in plant resistance: a review,” *Environ. Chem. Lett.*, pp. 147–157, 2006.
- [20] E. Haslam, “Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action,” *J. Nat. Prod.*, vol. 59, no. 2, pp. 205–215, 1996.
- [21] A. Scalbert, “Antimicrobial Properties,” *Phytochemistry*, vol. 30, no. 12, pp. 3875–3883, 1991.
- [22] I. M. O. A. Parwata and P. F. S. Dewi, “Isolasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L.),” *J. Kim.*, vol. 2, no. 2, pp. 100–104, 2008.