

Senyawa Antibakteri Daun Belawan Putih (*Tristaniopsis whiteana*)
(Antibacterial Compounds of Belawan Putih (*Tristaniopsis whiteana*) Leaves)

Dewi Handayani^{1,2}, Suminar S. Achmadi¹, & Andria Agusta²

¹Departemen Kimia, Institut Pertanian Bogor, Kampus Dramaga Bogor 16680,

²Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI Jl. Jakarta-Bogor km 46, Cibinong

E-mail: wie_bara@yahoo.com

Memasukkan: November 2013, Diterima: Desember 2013

ABSTRACT

Isolation of antibacterial compounds from chloroform extract of belawan putih (*Tristaniopsis whiteana*) leaves has been done. The bioautography analysis of the extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis*, subsequently followed by isolation and purification of active compounds led us to obtain two pure compounds, compound 1 and 2. Furthermore, the compound 2 was identified as betulinic acid based on their spectroscopic data including ultraviolet spectrum, infrared spectrum, 1D- and 2D-NMR spectra. In addition, this is the first report of the occurrence of this compound in the plant of *Tristaniopsis whiteana* and the genus of *Tristaniopsis*.

Keywords: antibacterial, active compound, leaves, *Tristaniopsis whiteana*

ABSTRAK

Isolasi senyawa aktif antibakteri dari ekstrak kloroform daun belawan putih (*Tristaniopsis whiteana*) telah dilakukan. Analisis bioautografi ekstrak terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*, dilanjutkan dengan isolasi dan pemurnian senyawa aktif sehingga diperoleh dua senyawa murni, senyawa 1 dan 2. Selanjutnya, senyawa 2 diidentifikasi sebagai asam betulinat berdasarkan data spektroskopi meliputi spektrum ultraviolet, spektrum inframerah, spektra 1D- dan 2D-RMI. Ini adalah laporan pertama tentang adanya asam betulinat yang terkandung dalam tumbuhan belawan putih (*Tristaniopsis whiteana*) maupun genus *Tristaniopsis*.

Kata Kunci: antibakteri, daun, senyawa aktif, *Tristaniopsis whiteana*

PENDAHULUAN

Hutan gambut di Indonesia memiliki biodiversitas yang khas dengan keragaman flora dan fauna sehingga menjadi sumber daya hayati yang sangat berharga. Luas lahan gambut di Indonesia diperkirakan mencapai 17-27 juta ha (Rieley *et al.* 1996). Sekitar 5,77 juta ha dari luasan tersebut terdapat di Kalimantan, dan Kalimantan Tengah merupakan daerah yang memiliki lahan gambut terluas, yaitu sekitar 3,01 juta hektar (Wahyunto *et al.* 2004). Salah satu potensi yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat disekitar kawasan tersebut adalah pemanfaatan tumbuhan hutan untuk bahan obat.

Salah satu tumbuhan yang terdapat di dalam ekosistem hutan gambut ialah genus *Tristaniopsis*. Beberapa jenis tumbuhan dari genus *Tristaniopsis*

berkhasiat sebagai obat. Syamsurizal (1997) menyatakan bahwa *T. sumatrana* berpotensi sebagai obat kontrasepsi, sedangkan ekstrak metanol kulit kayu *T. calobuxus* dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase, elastase, dan metalloproteinase-9 (Gariboldi *et al.* 1998; Bellosta *et al.* 2003). Verotta *et al.* (2001) melaporkan bahwa daun dan kulit kayu *T. calobuxus*, *T. yateensis*, dan *T. glauca* berpotensi sebagai obat antimalaria. Palajit *et al.* (2008) melaporkan potensi *T. burmanica* sebagai obat antibakteri, dan *T. laurina* dilaporkan berpotensi sebagai obat antimikroba dan antioksidan (US Patent Application 2008; Florence *et al.* 2012). Panagan dan Syarif (2009) melaporkan bahwa asap cair hasil pirolisis kayu *T. abavata* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Salah satu penelitian yang telah dilakukan oleh Pusat Penelitian Biologi-LIPI ialah penapisan

tumbuhan gambut di Kalimantan Tengah dan potensinya sebagai bahan obat antibiotik. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa salah satu tumbuhan di hutan gambut tersebut, yaitu daun belawan putih (*T. whiteana*) memiliki kemampuan hambat yang paling tinggi terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan diameter daya hambat sebesar 10 dan 12 mm pada pemakaian 200 dan 400 µg ekstrak (Jamal *et al.*, *Unpublished data*).

Hasil penelitian Utama (2002), Wahyuningsih (2005), dan Farid (2005) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat, ekstrak heksana, dan ekstrak metanol dari kulit batang tumbuhan belawan putih mampu menghambat aktivitas bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Ekstrak etil asetat kulit batang belawan putih mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan terpenoid (Utama 2002). Setyowati *et al.* (2005) melaporkan bahwa kulit batang tumbuhan belawan putih digunakan oleh masyarakat Dayak sebagai obat diare.

Informasi tentang potensi daun belawan putih sebagai bahan obat, terutama struktur kimia senyawa aktif sebagai antibakteri dari tumbuhan tersebut sangat terbatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengungkap senyawa aktif yang berperan sebagai bahan antibakteri

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan yang digunakan ialah daun belawan putih yang diperoleh dari hutan gambut Hampangan Kalimantan Tengah. Bakteri yang digunakan adalah biakan bakteri *S. epidermidis* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan *E. coli* dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Penelitian Biologi-LIPI.

Sampel berupa daun belawan putih dikoleksi dari hutan gambut dan kerangas Bawan Kalimantan Tengah dan diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi LIPI. Daun belawan putih dikeringanginkan dan digiling dengan *grinder* sehingga menjadi serbuk.

Sampel (350 g) dimaserasi menggunakan pelarut

metanol (3 L). Ekstrak metanol (71 g) yang diperoleh kemudian dipartisi dengan 4 pelarut secara bertingkat. Pelarut tersebut dibedakan berdasarkan kepolarannya, yaitu *n*-heksana (nonpolar), kloroform (semipolar), etil asetat (semipolar), dan metanol (polar). Setiap ekstrak selanjutnya dipekatkan dengan penguap putar pada suhu 35°C. Ekstrak pekat yang diperoleh dikeringkan dengan gas N₂ dan diperoleh ekstrak kering *n*-heksana (5,25 g), kloroform (4,59 g), etil asetat (29,73 g), dan residu atau ekstrak metanol (31,42 g).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode Bioautografi (Hamburger *et al.* 1987). Uji ini dilakukan dengan menyiapkan pelat kromatografi lapis tipis (KLT) yang sudah ditotol sebanyak 100 µg ekstrak (10 mg/mL aseton), selanjutnya dicelupkan pada media *brain heart infusion* (BHI) yang mengandung inokulan bakteri sebanyak 10⁶ cfu/mL. Pelat KLT tersebut dipindahkan ke cawan petri steril, yang di dalamnya telah diberi kapas steril yang dibasahi akuades steril, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Pelat KLT selanjutnya disemprot dengan iodonitro tetrazolium (INT). Aktivitas antibakteri dari ekstrak uji diamati dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekeliling bercak pada pelat KLT.

Bioautografi KLT dilakukan dengan elusi. Sebanyak 100 µg ekstrak (10 mg/mL aseton) ditotolkan pada pelat KLT ukuran 1 x 6,5 cm dan dielusi dengan campuran pelarut diklorometanametanol (10-1). Setelah dikeringkan, kromatogram yang terbentuk pada KLT divisualisasikan dengan penampak noda serum dan iluminasi dengan UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Pelat KLT yang telah ditotolkan 100 µg ekstrak dan dielusi, di *overlay* dengan suspensi bakteri uji dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Untuk mendeteksi ada atau tidaknya aktivitas antibakteri, pelat KLT yang telah diinkubasi dengan bakteri disemprot dengan larutan INT (4 mg/mL) dan diinkubasi kembali selama 1 jam pada kondisi yang sama. Aktivitas antibakteri dari spot atau

bercak pada KLT ditandai dengan terbentuknya zona bening. Isolasi senyawa aktif dalam ekstrak kloroform (322,1 mg) menggunakan teknik kromatografi kolom dengan silika gel sebagai fase diam dilakukan sebanyak 5 kali dan fase gerak yang digunakan yaitu kloroform-metanol (30:1-10:1) pada kolom pertama; heksana-etil asetat (2:1-1:50) dan etil asetat-metanol (50:1-5:1) pada kolom kedua; heksana-kloroform (1:1), kloroform, dan kloroform-metanol (95:5) pada kolom ketiga; kloroform-metanol (100:1-98:2) pada kolom keempat; dan kloroform-etil asetat (2:1-1:3) pada kolom kelima. Kemudian isolasi dilanjutkan menggunakan kolom Sephadex LH-20 (fase gerak yaitu kloroform-metanol 1:1) dan diperoleh senyawa 1 dengan bobot 1,6 mg.

Berhubung keterbatasan senyawa murni, sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan elusidasi strukturnya, maka dilakukan perbanyakan isolasi ekstrak kloroform guna memperoleh senyawa aktif lain. Isolasi ekstrak kloroform (1.5 g) dilakukan dengan kolom silika gel sebagai fase diam sebanyak 3 kali dengan fase gerak yaitu kloroform-metanol (50:1-1:1) pada kolom pertama; kloroform-etil asetat (10:1-1:1) pada kolom kedua; dan kloroform-etil asetat (10:1) pada kolom ketiga. Kemudian isolasi dilanjutkan menggunakan kolom Sephadex LH-20 dengan fase gerak yaitu kloroform-metanol 1-1, dan diperoleh senyawa 2 dengan bobot 12,2 mg.

Konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan dengan metode dilusi (Andrews 2001) atau pengenceran menggunakan mikrotiter 96-well. Ekstrak dibuat dengan membuat larutan induk 512 µg/mL dalam DMSO 30% lalu diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, dan 1 µg/mL. Kontrol negatif yang digunakan ialah media Mueller-Hinton broth (MHB) dan pelarut (DMSO 30%), sedangkan kontrol positifnya ialah kloramfenikol. Sebanyak 100 µL media MHB dimasukkan dalam mikrotiter 96-well. Selanjutnya, setiap ekstrak sebanyak 100 µL ditambahkan ke dalam sumur yang sudah terisi media MHB. Ke dalam setiap sumur ditambahkan

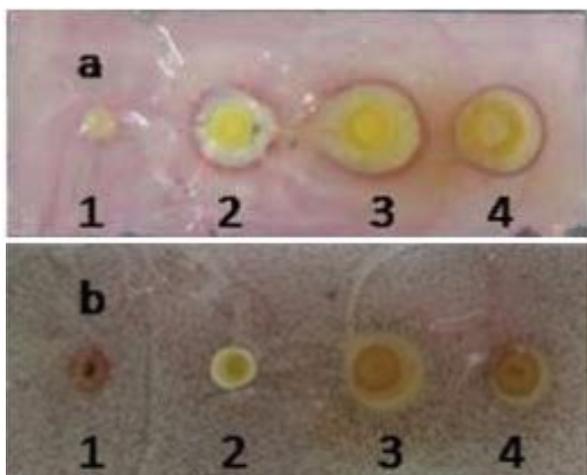
100 µL bakteri uji dan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, diamati timbulnya kekeruhan. Konsentrasi terkecil dari antibakteri yang tidak menimbulkan kekeruhan pada sumur merupakan nilai KHM.

Struktur kimia dari senyawa aktif yang diperoleh dielusidasi menggunakan spektrofotometer ultraviolet Shimadzu 1240, spektrofotometer inframerah Shimadzu IRPrestige-21, dan spektrometer resonansi magnetik inti JEOL JNM ECA-500 (meliputi ¹H-RMI, ¹³C-RMI, DEPT, HMBC, dan HMQC). Perekaman spektrum UV dilakukan dengan melarutkan sampel dalam metanol. Perekaman spektrum IR yaitu dengan menggerus sejumlah sampel dengan KBr secara homogen sehingga terbentuk pelet. Perekaman spektrum RMI dilakukan dengan melarutkan sampel dalam DMSO-d₆.

HASIL

Aktivitas antibakteri pada ekstrak daun belawan putih diuji dengan metode bioautografi. Pengujian ini dilakukan terhadap dua jenis bakteri uji, yang terdiri atas bakteri Gram negatif, yaitu *E. coli* dan bakteri Gram positif, yaitu *S. epidermidis*. Aktivitas antibakteri ekstrak heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol daun belawan putih terhadap dua bakteri uji dengan metode bioautografi ditunjukkan pada Gambar 1.

Hasil analisis bioautografi (Gambar 1) memperlihatkan bahwa ekstrak etil asetat menghasilkan daerah penghambatan paling luas dibanding ekstrak lainnya terhadap dua bakteri uji (*E. coli* dan *S. epidermidis*). Ekstrak etil asetat dan metanol menghambat secara parsial, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona yang kurang bening terhadap dua bakteri uji, sehingga dipilih ekstrak kloroform untuk dimurnikan dan ditentukan struktur senyawa aktifnya. Nilai diameter zona hambat ekstrak daun belawan putih terhadap bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis* dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil bioautografi KLT dengan elusi diperoleh bahwa



Gambar 1. Aktivitas antibakteri ekstrak *n*-heksana (1), kloroform (2), etil asetat (3), dan metanol (4) daun belawan putih terhadap *E. coli* (a) dan *S. epidermidis* (b) dengan metode bioautografi non-elusi.

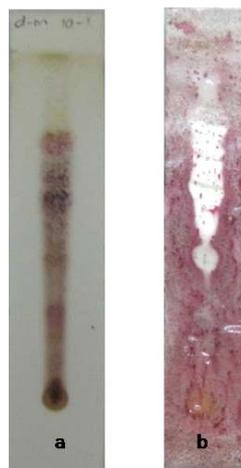
Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak daun belawan putih terhadap bakteri *E. coli* dan *S. epidermidis* dengan metode bioautografi non-elusi (* = bersifat parsial).

Ekstrak	Diameter (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. epidermidis</i>
<i>n</i> -Heksana	4	-
Kloroform	10	6
Etil Asetat	11*	9*
Metanol	9,5*	6,5*

senyawa aktif pada ekstrak kloroform terdapat pada Rf 0,4 – 0,8 (Gambar 2).

Isolasi dan pemurnian senyawa aktif dilakukan menggunakan kolom silika gel G₆₀F₂₅₄ dan Sephadex LH-20. Berdasarkan hasil isolasi diperoleh 2 senyawa murni yaitu senyawa 1 (1,6 mg) dan senyawa 2 (12,2 mg).

Perekaman spektrum UV senyawa 2 dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 223 nm. Berdasarkan spektrum IR senyawa 2 menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3431, 2941, 2870, 1689, 1639, 1452, 1377, 1689, dan 1043 cm⁻¹. Pencirian dengan ¹H-RMI senyawa 2 menunjukkan sinyal proton pada δ 0.86, 0.64, 0.76, 0.86, 0.93, 1.64, 2.95, 4.56 dan 4.69 ppm (Tabel 2). Sedangkan pencirian dengan ¹³C-RMI senyawa 2



Gambar 2. Kromatogram ekstrak kloroform daun belawan putih dengan eluen diklorometana-metanol 10-1 penampak noda serium (a) dan bioautogram ekstrak kloroform dengan bakteri uji *S. epidermidis* (b). Zona putih menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri oleh komponen kimia oleh ekstrak kloroform daun belawan putih.

menghasilkan 30 sinyal atom karbon (Tabel 2).

Nilai KHM senyawa 1 dan senyawa 2 terhadap *S. epidermidis* masing-masing sebesar 128 μ g/mL dan >128 μ g/mL, sedangkan terhadap *E. coli* senyawa 1 dan senyawa 2 mempunyai nilai yang sama sebesar 128 μ g/mL. Kontrol positif berupa antibiotik komersial kloramfenikol menunjukkan nilai KHM yang sama terhadap *S. epidermidis* dan *E. coli* sebesar 4 μ g/mL (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri, diduga senyawa aktif antibakteri daun belawan putih bersifat semipolar. Hal ini ditunjukkan dari zona bening terbesar hasil uji bioautografi terdapat pada ekstrak dengan pelarut yang bersifat semipolar (kloroform).

Berdasarkan hasil spektrum UV, senyawa 2 diduga mempunyai ikatan rangkap yang tidak berkonjugasi. Senyawa yang mempunyai transisi dari π ke π^* (tidak berkonjugasi) menyerap cahaya pada panjang gelombang 190 nm. Gugus tak jenuh di dalam senyawa pada saat pengukuran, mengakibatkan panjang gelombangnya bergeser ke

Tabel 2. Data ^{13}C -RMI (125 MHz) dan ^1H -RMI (500 MHz) senyawa 2 dan asam betulinat dalam pelarut DMSO dengan standar internal TMS dalam satuan ppm.

No. atom	Senyawa 2		Asam betulinat*	
	^{13}C -RMI	^1H -RMI	^{13}C -RMI	^1H -RMI
1	38.26		38.28	
2	27.17		27.16	
3	76.78	2.95 (1H, m)	76.81	3.17 (1H, m)
4	38.52		38.51	
5	54.89		54.90	
6	17.97		18.95	
7	33.91		33.94	
8	40.26		40.27	
9	49.92		49.96	
10	36.73		36.73	
11	20.46		20.48	
12	25.08		25.10	
13	37.59		37.60	
14	42.01		42.02	
15	30.10		30.12	
16	31.73		31.75	
17	55.43		55.44	
18	46.63		46.62	
19	48.53		48.57	
20	150.35		150.35	
21	29.21		29.22	
22	36.36		36.37	
23	28.12	0.86 (3H, s)	28.09	0.86 (3H, s)
24	15.84	0.64 (3H, s)	15.81	0.64 (3H, s)
25	15.97	0.76 (3H, s)	15.96	0.76 (3H, s)
26	15.74	0.86 (3H, s)	15.75	0.92 (3H, s)
27	14.39	0.93 (3H, s)	14.40	0.97 (3H, s)
28	177.29		177.61	
29	109.68	4.69 (1H, s) dan 4.56 (1H, s)	109.61	4.69 (1H, s) dan 4.56 (1H, s)
30	18.95	1.64 (3H, s)	17.98	1.64 (3H, s)

* Boonruad & Chansuwanich 2012

Tabel 3. Nilai KHM senyawa 1 dan senyawa 2 terhadap *S. epidermidis* dan *E. coli*

Sampel	Nilai KHM ($\mu\text{g/mL}$)	
	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>
Senyawa 1	128	128
Senyawa 2	>128	128
Kloramfenikol	4	4

arah yang lebih panjang (Kosela 2010).

Berdasarkan spektrum IR senyawa 2 menunjukkan regangan gugus -OH pada bilangan gelombang 3431 cm^{-1} yang diperkuat dengan regangan C-O pada bilangan gelombang 1043 cm^{-1} . Kedua serapan tersebut mengindikasikan adanya gugus OH yang terikat pada atom karbon.

Keberadaan gugus metil dan metilena ditunjukkan dengan munculnya regangan C-H alifatik pada 2941 dan 2870 cm^{-1} . Vibrasi tekuk C-H pada bilangan gelombang 1452 dan 1377 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus gem dimetil sebagai ciri khas senyawa triterpenoid. Ikatan rangkap (C=C) ditunjukkan dengan munculnya regangan C=C pada bilangan gelombang 1639 cm^{-1} . Gugus karbonil (C=O) ditunjukkan dengan munculnya regangan C=O pada bilangan gelombang 1689 cm^{-1} .

Pencirian dengan ^1H -RMI senyawa 2 menunjukkan adanya 6 sinyal proton gugus metil pada δ 0,86; 0,64; 0,76; 0,86; 0,93 dan 1,64 ppm. Puncak pada δ 4,56 dan 4,69 ppm mengindikasikan adanya proton yang terletak pada gugus olefinik (H-29) sedangkan pada δ 2,95 ppm mengindikasikan adanya proton yang terletak pada gugus hidroksi (H-3).

Spektrum ^{13}C -RMI senyawa 2 menghasilkan 30 sinyal atom karbon. Pada δ 177,29 ppm mengindikasikan adanya gugus karbonil. Adanya karbon olefinik ditunjukkan dengan munculnya sinyal pada δ 150,35 dan 109,68 ppm. Sinyal ini mengindikasikan adanya gugus isopropilena pada C-20 dan C-29.

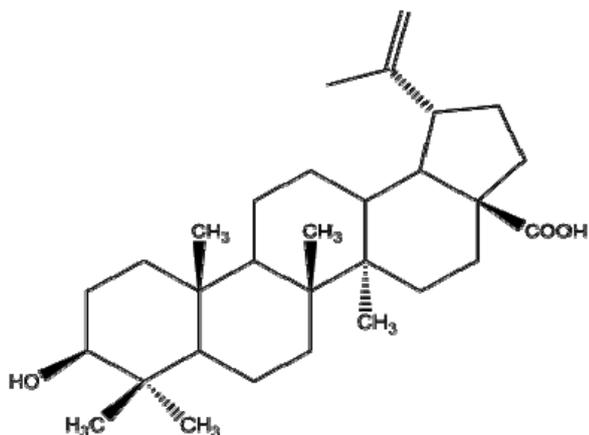
Berdasarkan spektrum ^1H -RMI, ^{13}C -RMI, DEPT, HMBC, dan HMQC senyawa 2 mempunyai 30 atom karbon dengan 1 gugus OH yang terikat pada C-3, 1 ikatan rangkap pada C-20 dan C-29, 1 gugus asam karboksilat pada C-28. Struktur senyawa 2 (Gambar 3) diduga merupakan senyawa triterpenoid dengan kerangka dasar lupan, yaitu asam betulinat. Perbandingan spektrum ^{13}C -RMI yang menunjukkan kemiripan antara senyawa 2 dan asam betulinat (Boonruad dan Chansuwanich 2012) dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3. Berdasarkan pustaka, asam betulinat belum pernah diisolasi dari tumbuhan belawan putih maupun tumbuhan dalam genus *Tristaniopsis*. Asam betulinat dilaporkan terkandung dalam beberapa tanaman pada genus *Syzygium* (Myrtaceae) (Kashiwada *et al.* 1998, Chang *et al.* 1999, Boonruad dan Chansuwanich 2012). Penggunaan belawan putih oleh masyarakat Dayak sebagai obat diare

diduga disebabkan oleh peran asam betulinat yang terkandung dalam tumbuhan ini.

Senyawa 1 dan 2 mempunyai nilai KHM sangat lemah dibandingkan dengan kloramfenikol terhadap *S. epidermidis* dan *E. coli*. Berdasarkan pustaka, asam betulinat (senyawa 2) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Woldemichael *et al.* (2003) melaporkan bahwa asam betulinat, yang diisolasi dari ekstrak diklorometana-metanol kulit batang *Caesalpinia paraguariensis*, mempunyai nilai KHM > 128 µg/mL terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, dan *Candida albicans*.

Setzer *et al.* (2000) melaporkan bahwa asam betulinat yang diisolasi dari ekstrak kloroform kulit batang *Syncarpia glomulifera* (Myrtaceae) menunjukkan aktivitas antibakteri dan sitotoksik. Asam betulinat berperan terhadap bioaktivitas ekstrak kasar kulit batang tumbuhan ini karena kelimpahannya yang relatif besar (10% dari ekstrak kasar).

Aktivitas antibakteri asam betulinat, yang diisolasi dari daun *Vitex negundo*, terhadap *B. subtilis* dan *E. coli* dengan metode kertas cakram dilaporkan oleh Chandramu *et al.* (2003). Asam betulinat tidak menunjukkan zona inhibisi terhadap *E. coli* pada konsentrasi 1000, 500, 250 dan 125 µg/disc. Namun, asam ini menunjukkan zona hambat terhadap *B. subtilis* sebesar 18,8 mm² pada konsentrasi 1000 µg/disc sedangkan pada konsentrasi 500 µg/disc dan di bawahnya, asam betulinat tidak menunjukkan zona hambat.



Gambar 3. Struktur senyawa 2 (asam betulinat)

Shin *et al.* (2009) melaporkan bahwa ekstrak *Forsythia suspensa* menunjukkan penghambatan yang kuat terhadap aktivitas urease *Helicobacter pylori*. Dua senyawa aktif yang diisolasi dari ekstrak tanaman ini ialah asam betulinat dan asam oleanolat. Pada konsentrasi yang sama, asam betulinat mampu menghambat aktivitas urease *H. pylori* lebih kuat dari asam oleanolat.

KESIMPULAN

Hasil isolasi dan pemurnian pada ekstrak kloroform diperoleh 2 senyawa murni, yaitu senyawa 1 dan 2, yang mempunyai nilai KHM sama terhadap *E. coli*, yaitu 128 µg/mL. Nilai KHM terhadap *S. epidermidis* pada senyawa 1 dan 2 berturut-turut ialah 128 µg/mL dan > 128 µg/mL. Berdasarkan hasil elusidasi struktur dengan spektrofotometer ultraviolet, inframerah, ¹H-RMI, ¹³C-RMI, DEPT, HMBC, dan HMQC, diidentifikasi bahwa senyawa 2 adalah asam betulinat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dr. Joeni Setijo Rahajoe, Dr. Laode Alhamd atas dukungan untuk penelitian ini. Terimakasih juga ditujukan kepada Dewi Wulansari, M.Sc dan Ahmad Fathoni, M.Si, atas diskusi yang berharga untuk memperkaya tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, JM. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother.* 48:5-16.
- Bellosta, S., DA. Mario, M.Canavesi, N. Mitro, M. Monetti, M. Crestani, L. Verotta, N. Fuzzati, F. Bernini, & E. Bosisio. 2003. Inhibition of metalloproteinase-9 activity and gene expression by polyphenolic compounds isolated from the bark of *Tristaniopsis calobuxus* (Myrtaceae). *Cell Mol Life Sci.* 60: 1440-8.
- Boonruad, T. & N. Chansuwanich. 2012. Chemical

- constituents of antibacterial active fraction from *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves extract. *Bull. Dep. Med. Sci* 42(2):109-118.
- Chandramu, C., RD. Manohar, DGL. Krupadanam, & RV. Dashavantha. 2003. Isolation, characterization and biological activity of betulinic acid and ursolic acid from *Vitex negundo* L. *Phyt. Res* 17(2):129-134.
- Chang CW., TS. Wu, YS. Hsieh, SC. Kuo, & PDL. Chao. 1999. Terpenoids of *Syzygium formosanum*. *J. Nat. Prod.* 62(2):327-328.
- Farid, M. 2005. Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Heksana Kulit Kayu Batang Pelawan (*Tristania whitiana* Griff). [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Florence, T., D. Gan, & M. Hines, penemu; Mary Kay Inc. 2012. Topical skin formulations comprising botanical extracts. Paten Amerika (US) 8173184 B2.
- Gariboldi, E., D. Mascetti, G. Galli, P. Caballion, & E. Bosisio. 1998. LC-UV-Electrospray-MS-MS mass spectrometry analysis of plant constituents inhibiting xanthine oxidase. *Pharm. Res.* 15(6):936-43.
- Hamburger, MO., & GA. Cordell. 1987. A direct bioautographic TLC assay for compounds possessing antibacterial activity. *J. Nat. Prod.* 50(1): 19-22.
- Kashiwada Y., HK. Wang, T. Nagao, S. Kitanaka, I. Yasuda, T. Fujioka, T. Yamagishi, LM. Cosentino, M. Kozuka, H. Okabe, Y. Ikeshiro, CQ. Hu, E. Yeh, KH. Lee *et al.* 1998. Anti-AIDS agents. 30. anti-HIV activity of oleanolic acid, pomolic acid, and structurally related triterpenoids. *J. Nat. Prod.* 61(9):1090-1095.
- Kosela, S. 2010. Cara Mudah dan Sederhana Penentuan Struktur Molekul Berdasarkan Spektra data (NMR, Mass, IR, UV). Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia. Depok.
- Palajit, S., A. Varipat, & V. Asanee. 2008. Evaluation of antimicrobial from some Thai wild plants. Proceedings of the 46th Kasetsart University Annual Conference. Bangkok, 29 Januari-1 Februari 2008. 638-645.
- Panagan, AT., & N. Syarif. 2009. Uji daya hambat asap cair hasil pirolisis kayu pelawan (*Tristania abavata*) terhadap bakteri *Eschericia coli*. *J. Penelit. Sains.* 9:12-06.
- Rieley, JO., SAA. Ahmad, & MA. Brady. 1996. The extent and nature of tropical peat swamps in tropical lowland peatlands of South East Asia. IUCN Gland. Switzerland.
- Setyowati, FM., S. Riswan, & S. Susiarti. 2005. Etnobotani masyarakat Dayak Ngaju di daerah Timpah Kalimantan Tengah. *J. Tek Lingk.* 6(3):502-510.
- Setzer WN., MC. Setzer, RB. Bates, & BR. Jackes. 2000. Biologically active triterpenoids of *Syncarpia glomulifera* bark extract from Paluma, North Queensland, Australia. *Plant. Med.* 66(2):176- 177.
- Shin S., CE. Park, NI. Baek, IC. Chung, & CH. Park. 2009. Betulinic and oleanolic acids isolated from *Forsythia suspensa* VAHL inhibit urease activity of *Helicobacter pylori*. *Biotech. Biop. Eng* 14(2):140-145.
- Syamsurizal. 1997. Pengaruh pencekokan ekstrak *Tristania sumatrana* Hiq. (kayu kasai) terhadap fertilitas mencit betina *mus Musculus L* galur Swiss Webster. [Tesis]. Depok: Universitas Indonesia.
- US Patent Application. 2008. Antimicrobial and pesticidal composition and methods comprising reduced monotherpene oil extracted from Myrtaceae. Paten Amerika US 20080026083.
- Utama, EP. 2002. Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Pelawan (*Tristania whitiana* Griff). [Skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Verotta, L., DA. Mario, A. Giolito, M. Guerrini, P. Cabalion, & E. Bosisio. In vitro antiplasmodial activity of extracts of *Tristaniaopsis* species and identification of the active constituents : ellagic acid and 3, 4, 5-trimethoxyphenyl-(6'-O-galloyl)-O-beta-D-glucopyranoside. *J Nat Prod.* 64(5):603-7. doi:10.1021/np000306j.

- Wahyuningsih, SH. 2005. Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Metilena Diklorida dalam Metanol Kulit Kayu Pelawan (*Tristania whittiana* Griff.). [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wahyunto, S. Ritung, & H. Subagjo. 2004. Peta Luas Sebaran Lahan Gambut dan Kandungan Karbon Di Pulau Kalimantan 2000-2002. Wetlands International-Indonesia Programme & Wildlife Habitat Canada (WHC).Bogor.
- Woldemichael GM., MP. Singh, WM. Maiese, & BNZ. Timmermann. 2003. Constituents of antibacterial extract of *Caesalpinia paraguariensis* bark. *Zeitsch für Nat for Schung* C 58(1-2):70-75.